



UNIVERSIDAD
NACIONAL
DEL NORDESTE



FACULTAD
DE MEDICINA

Maestría en Micología Médica

**“Validación De Índices De Predicción Y Uso De Biomarcadores Serológicos
para el Diagnóstico de la Candidiasis Invasora (CI) en Pacientes Críticamente
Enfermos en Unidad de Cuidados Intensivos (UCI)”**

Maestrando

ELINA LUCELLY PAREDES DIAZ

Director

PILAR RIVAS PINEDO

Año 2018

DEDICATORIA

A mi madre Elina Díaz, por el amor, el compromiso profundo, el empuje, la paciencia, el cuidado y la comprensión, ejemplo siempre de tenacidad y unión familiar.

A mis hermanos Ana Lucía, Nohora, Silvana, Fernando y Dolly, por su apoyo y soporte incondicional, por su complicidad silenciosa, por creer siempre en mí y estar presentes en mi vida.

AGRADECIMIENTOS

Gracia de corazón a mi directora de tesis Doctora Pilar Rivas Pinedo. Gracias por su paciencia, dedicación, motivación, criterio y aliento. Por darme fuerza en los momentos más difíciles y levantarme siempre con su infinita e inagotable capacidad de sacarle a la vida lo mejor de ella. Ha sido un privilegio contar con su guía y ayuda.

Gracias infinitas Doctor Jorge Ignacio Martínez, por su decisivo apoyo en el desarrollo de esta idea, sin su ayuda no hubiera sido posible llegar hasta aquí, y sentirme orgullosa de lo que logramos. Gracias por el magnífico equipo de profesionales de la unidad que siempre estuvieron dispuestos a colaborar.

Gracias de manera especial a mis maestros en Buenos Aires y en Resistencia, mentes prodigiosas y personas generosas con calidez humana insuperable. Al Hospital Muñiz, y a todo el equipo de la unidad de Micología por acogerme y entregarme infinidad de experiencias valiosas.

Gracias a mi Fundación Hospital San Pedro, Doctora Ema Guerra Nieto por permitir hacer realidad un sueño. Gracias Dra. Janeth Rubiano, Dra. Adriana Pantoja y Dra. Angela Guerrero por brindarme siempre su apoyo e impulsarme a sacar adelante mi proyecto de Maestría.

Gracias, con especial cariño a todos mis compañeros de Laboratorio Clínico, por estar presentes y por ser siempre personas maravillosas con una gran capacidad de esfuerzo y simpatía.

Gracias a los amigos a los que he robado horas de compañía. Gracias por estar ahí a pesar de mi ausencia. Dios los bendiga.

ÍNDICE

Pág.

Introducción	13
1. Generalidades sobre las especies de <i>Candida</i>	14
Clasificación taxonómica.....	14
Aspectos generales	14
1.1 Distribución Geográfica	15
Especies de <i>Candida</i>	15
1.2 Descripción Fisiológica	16
Pared celular.....	16
Membrana celular	19
Desarrollo y Crecimiento.....	19
Estados morfológicos de <i>Candida</i>	20
Factores de virulencia de <i>Candida</i>	22
Enzimas.....	23
Expresión diferencial de genes en respuesta al medio ambiente	24
Morfogénesis	25
Biomoléculas de reconocimiento del hospedero-adhesina.....	25
Formación de <i>biofilm</i>	27
<i>Quorum sensing</i>	27
Moduladores de la respuesta inmune	27
1.3 Patogénesis	28
Aspectos generales de la infección por <i>Candida</i>	28
Colonización	29
Adhesión.....	30
Invasión	30
Daño	31
2. Epidemiología de la Candidiasis Invasora	32
2.1 Comportamiento global	32
2.2 Distribución de especies	33
2.3 Poblaciones de riesgo.....	35
2.4 Impacto en paciente crítico	36
3. Espectro Clínico de la EFI	38
Definición de EFI	38
3.1 Candidiasis Invasora.....	39

Definición de Candidiasis.....	39
Definición de Candidemia	41
Candidiasis profunda localizada.....	41
Candidiasis diseminada	42
Criterios diagnósticos.....	42
3.2 Predicción Clínica de Candidiasis Invasora.....	42
Scores predictivos de Candidiasis Invasora	43
Índices de colonización	44
Reglas Ostrosky-Zcheiner.....	44
Regla Nebraska Medical Center	45
<i>Score Candida</i>	45
Regla Paphitou y col	45
Modelo Dupont y col.	46
Modelo Michalopoulos y col.	46
Modelo Shorr y col.	46
3.3 Diagnostico de la CI	47
Diagnóstico convencional por cultivo	47
Diagnóstico basado en marcadores biológicos	49
¿Cómo se define un biomarcador?	50
Biomarcadores basados en métodos inmunológicos	51
Detección de manano y anti-manano.....	51
Detección de anticuerpos anti tubo-germinal	52
Detección de β -1,3-D glucano.....	53
4. Antifúngicos	55
4.1 Clasificación general de los Antifúngicos	55
4.2 Estrategias de Tratamiento Antifúngico.....	56
Tratamiento profiláctico.....	56
Tratamiento anticipado	56
Tratamiento empírico	57
Tratamiento dirigido	57
5. Justificación	59
6. Problema	61
7. Hipótesis.....	62
8. Objetivos.....	63
Objetivo General.....	63
Objetivos Específicos.....	63
9. Materiales y Métodos.....	64

Metodología.....	64
Población.....	64
Especímenes Clínicos	65
Variables.....	65
Pruebas diagnósticas.....	66
Cultivos micológicos	66
Detección de Manano y Anti-manano	66
Análisis Estadístico	67
Definiciones	68
10. Resultados.....	71
11. Discusión.....	80
Epidemiología y distribución de especies.....	80
Índices de predicción: <i>Score Candida</i> (ScC).....	81
Rendimiento de Biomarcadores Mn, Anti-Mn y combinación Mn/Anti-Mn	84
Valores esperados	85
Validez de la prueba diagnóstica: Sensibilidad y Especificidad.	87
Impacto de una TAF, temprana y adecuada	90
Conclusiones	94
Bibliografía.....	96

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1. Papel de la morfología de <i>Candida spp.</i> en el proceso de colonización y diseminación a tejidos del hospedero.	21
Tabla 2. Factores condicionantes y poblaciones de riesgo CI/candidemia	36
Tabla 3. Criterios de EORTC y MSG para el diagnóstico de EFI probable y posible... ..	40
Tabla 4. Métodos automatizados para la identificación de hongos levaduriformes	48
Tabla 5. Características de las colonias de especies de <i>Candida</i> en medios cromogénicos	49
Tabla 6. Clasificación de los antifúngicos según su sitio blanco	56
Tabla 7. Criterios diagnósticos de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica.....	70
Tabla 8. Características demográficas de los pacientes ingresados a UCI con factores de riesgo para CI	71
Tabla 9. Co-morbilidades y factores de riesgo para candidiasis invasora	72
Tabla 10. Colonización multifocal, Índice de Pittet e Índice de Biotipificación (índice de colonización corregido)	73
Tabla 11. Frecuencia de las especies de <i>Candida</i> y asociación por sitio anatómico de aislamiento	73
Tabla 12. Análisis de CI posible y CI probada frente a resultados de ScC.....	74
Tabla 13. Análisis de TAF precoz y mortalidad cruda frente a los resultados del ScC	74
Tabla 14. Análisis de mortalidad en CI Posible, CI Probable y CI Probada.....	75
Tabla 15. Descripción de TAF en los pacientes de UCI	76
Tabla 16. Análisis de mortalidad en UCI de pacientes con TAF	76
Tabla 17. Biomarcadores Mn/Anti-Mn en determinaciones seriadas	77
Tabla 18. Biomarcadores Mn/Anti-Mn en CI Posible.....	78
Tabla 19. Biomarcadores Mn/Anti-Mn en CI Probable	79
Tabla 20. Relación ScC /Mn y Anti-Mn	79

ANEXOS

Anexo A. Hoja de Recolección de Datos.....	104
Anexo B. Consentimiento informado	105
Anexo C. Procedimiento de detección de Antígeno Manano de <i>Candida spp.</i> BioRad PLATELIA <i>Candida</i> Ag Plus.....	106
Anexo D. Procedimiento de detección de Anticuerpo Anti-Manano de <i>Candida spp.</i> BioRad PLATELIA <i>Candida</i> Ab Plus	107

Resumen.

“Validación de índices de predicción y uso de biomarcadores serológicos para el diagnóstico de la Candidiasis Invasora (CI) en pacientes críticamente enfermos en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI)”

Introducción.

Las enfermedades fúngicas invasoras (EFI) son cada vez más frecuentes en los pacientes de la unidad de cuidados intensivos (UCI) y se asocian con una duración prolongada de la hospitalización y un aumento de la mortalidad. La Candidiasis Invasora (CI) es la EFI más común entre los pacientes hospitalizados, la CI comprende tanto la candidemia como la candidiasis profunda, donde las especies de *Candida* se encuentran entre las causas más comunes de infecciones del torrente sanguíneo (ITS) nosocomiales, y se considera como un problema epidemiológico y clínico en las UCI alrededor del mundo. Una CI es difícil de predecir ya que no tiene signos ni síntomas específicos de la infección, y su diagnóstico precoz sigue siendo un reto, ya que la documentación microbiológica a menudo se produce tarde en el curso de la infección, los hemocultivos siguen siendo la piedra angular del diagnóstico pero tienen sensibilidad subóptimas (30%-50%) y la necesidad de tiempos de incubación largos, donde el definitivo de una CI requiere de una biopsia del tejido implicado para tinción, cultivo e histopatología, que trae como consecuencia el retraso en la instauración de la terapia antifúngica (TAF), disminuyendo la sobrevida de los pacientes de alto riesgo.

En los últimos años, se han recomendado pruebas no basadas en el cultivo para el diagnóstico para compensar los desafíos de diagnóstico y mejorar el manejo del paciente, el uso de índices de predicción pueden seleccionar aquellos pacientes de alto riesgo que se beneficiarían de una TAF temprana, así mismo, el uso de

biomarcadores, permiten una aproximación diagnóstica eficiente de una CI, que junto al uso de índices de predicción, establecen la probabilidad real de una CI que justificarían ese inicio temprano de TAF, que junto con la implementación de programas institucionales de administración de antifúngicos tiene el potencial de promover la utilización adecuada de agentes antifúngicos y mejorar significativamente la atención de los pacientes con infección por *Candida*.

Objetivos

Objetivo General.

Validar el uso de los modelos predictivos de la CI en pacientes hospitalizados en la UCI de la Fundación Hospital San Pedro-Pasto, como una herramienta para diagnóstico anticipado, mediante la evaluación de índices de predicción clínica, por medio de la ejecución de cultivos micológicos utilizando “*Score Candida*” y biomarcadores Antígeno Manano (Mn) y Anticuerpos Anti-Manano (Anti-Mn).

Objetivos Específicos.

1. Establecer el perfil epidemiológico de las EFI, por especies de *Candida*, mediante la búsqueda activa de colonización multifocal.
2. Determinar el índice “*Score Candida*” (ScC), como un apoyo real para el diagnóstico de una CI, en el paciente de alto riesgo hospitalizado en la UCI.
3. Cuantificar los niveles séricos de Mn y Anti-Mn y su relación con la multi-colonización candidiásica y el desarrollo posterior de una CI, en pacientes de alto riesgos hospitalizados en la UCI.
4. Evaluar el rendimiento diagnóstico de los niveles séricos del Mn y Anti-Mn como herramienta predictora de una CI en base a los criterios EORTC

5. Correlacionar los niveles séricos de Mn y Anti-Mn en relación a la TAF instaurada.

Materiales y Métodos.

Se realizó un estudio observacional prospectivo y análisis de concordancia Kappa en pacientes adultos ingresados en la UCI del Hospital de San Juan de Pasto, entre junio de 2017 y abril de 2018, tiempo definido en base en la disponibilidad de reactivos. Durante el periodo de estudio ingresaron a la UCI, un total de 1028 pacientes adultos, de los cuales se identificaron 64 pacientes (6.2%) que cumplían con los criterios de alto riesgo de CI, criterios definidos mediante Candida Score. Se les tomaron muestras clínicas de espacios anatómicos no estériles, junto con muestras séricas seriadas, mínimo 3 muestras por paciente, tomadas el día 1, día 3, día 6 y sucesivo cada 3 días según permanencia en la UCI, a partir del día 5 de estancia en UCI, simultáneo a la toma de hemocultivos, hasta el egreso del paciente, o hasta el día 14 de TAF.

Se evaluó la colonización multifocal y el ScC, un índice que incluye datos clínicos, que se les asigna un puntaje (nutrición parenteral total [NPT], cirugía abdominal y sepsis grave) y la colonización multifocal por *Candida* spp., junto con la detección sérica cuantitativa de Mn/Anti-Mn.

Resultados.

La media de edad de los pacientes fue de 58.3 años, (DS 22.30), 33 hombres (51.56%) y 31 mujeres (48.44%), con un tiempo promedio de estancia hospitalaria de 16.51 días (DS 11.56). En 17 pacientes (26,5%) se presentaba una enfermedad crónica asociada al ingreso en la UCI.

Colonización Multifocal y ScC

El 70,5% de la población en estudio presentó una colonización multifocal de alto grado, (más de 3 sitios colonizados), asociado a NPT (n=14, 21,8%), cirugía abdominal (n=19, 29,6%) y sepsis grave (n=61, 29,69%). De un total de 171 aislamientos de *Candida* spp., la especie más frecuente fue *Candida albicans* (59%), seguido de *Candida glabrata* (21.6%). El 75% de los pacientes tenían antecedentes de TAF durante los 6 meses anteriores a su hospitalización, y en 33 pacientes (51,56%), se le inicio una TAF al inicio del periodo de riesgo, con un promedio de 6.4 días (DS 2.56) de TAF con fluconazol (FCZ) y de 8.1 días (DS 2.71) de TAF en los casos con caspofungina (CAS). De los 64 pacientes, 17 (26,5%), tuvieron una puntuación ScC considerada como positiva. La mortalidad cruda de los pacientes en estudio fue del 35,9% (n=23 paciente), y en 12 pacientes (75%) se inició una TAF dirigida, asociada al alto riesgo de infección (p=0.010), donde en 10 pacientes (43.4%) se asoció con un ScC positivo (P=0,030).

Biomarcadores Mn/Anti-Mn

Un total de 178 muestras séricas tomadas a partir de los 64 pacientes, se les realizó la determinación serológica de Mn/Anti-Mn, donde la primera muestra se tomó el día 1 considerado como de alto riesgo de CI, y luego cada tercer día hasta el egreso (o fallecimiento) del paciente o la finalización de TAF. Simultáneamente, el 26,7 % (n=17) de los pacientes tuvieron una puntuación ScC, considerada como positiva. La mortalidad cruda de los pacientes en estudio fue del 35,9% (n=23), donde en 9 (31%) se diagnosticó una CI probable, asociada a la positividad de al menos uno de los biomarcadores (Mn/Anti-Mn), falleciendo 2 pacientes (14,2%, p=0.470); y en 18 (62%) pacientes se diagnosticó una CI posible asociada a un ScC positivo, falleciendo 10 pacientes (55.56 %, p=0.049). En cuanto al rendimiento diagnóstico de la prueba

Mn/Anti-Mn, 36 pacientes tuvieron al menos uno de los biomarcadores positivos, con una prevalencia de CI del 28% (IC95% 18-40.8), con una sensibilidad (S) del 77.8% (IC95% 52.4-93.6), una especificidad (E) del 21.7% (IC95% 10.9-36.4), un Valor Predictivo Positivo (VPP) del 28% (IC95% 16.2-42.5), y un Valor Predictivo Negativo (VPN) del 71.4% (IC95% 41.9-91.6).

Discusión y Conclusiones.

Se estableció, que la presencia de una colonización multifocal pesada junto con las características clínicas asociadas al ScC, pueden llegar a estratificar al paciente de alto riesgo de una CI, asociada a la alta mortalidad, lo que puede determinar el beneficio del inicio de TAF temprana. El uso de las escalas de predicción puede llegar a ser una herramienta útil para determinar que se beneficiaría del inicio de una TAF, sin embargo, debe considerarse cuidadosamente la conducta terapéutica inicial, para evitar el uso inadecuado de una TAF temprana.

El uso de biomarcadores puede ayudar a diferenciar una colonización de una verdadera infección, y lograr optimizar el diagnóstico de una CI (CI probable). La prueba en combinación Mn/Anti-Mn, asociada a su VPN, podría ser útil para detectar una infección temprana. En nuestro estudio su utilidad como biomarcador temprano de la CI, fue considerada incierta, aunque podría llegar a ser útil para descartar una CI, en un paciente de alto riesgo, debido a su alto VPN.

Introducción

Las enfermedades fúngicas invasoras (EFI) son cada vez más frecuentes en los pacientes de la unidad de cuidados intensivos (UCI) y se asocian con una duración prolongada de la hospitalización y un aumento de la mortalidad. La Candidiasis Invasora (CI) es la EFI más común entre los pacientes hospitalizados, la CI comprende tanto la candidemia como la candidiasis profunda, donde las especies de *Candida* se encuentran entre las causas más comunes de infecciones del torrente sanguíneo (ITS) nosocomiales. y se considera como un problema epidemiológico y clínico en las UCI alrededor del mundo. Una CI es difícil de predecir ya que no tiene signos ni síntomas específicos de la infección, y su diagnóstico precoz sigue siendo un reto, ya que la documentación microbiológica a menudo se produce tarde en el curso de la infección, los hemocultivos siguen siendo la piedra angular del diagnóstico pero tienen sensibilidad subóptima (30%-50%) y la necesidad de tiempos de incubación largos, donde el definitivo de una CI requiere de una biopsia del tejido implicado para tinción, cultivo e histopatología, que trae como consecuencia el retraso en la instauración de la terapia antifúngica (TAF), disminuyendo la sobrevida de los pacientes de alto riesgo.

En los últimos años, se han recomendado pruebas no basadas en el cultivo para el diagnóstico para compensar los desafíos de diagnóstico y mejorar el manejo del paciente, el uso de índices de predicción pueden seleccionar aquellos pacientes de alto riesgo que se beneficiarían de un TAF temprano, así mismo, el uso de biomarcadores, permiten una aproximación diagnóstica eficiente de una CI, que junto al uso de índices de predicción, establecen la probabilidad real de una CI que justificarían ese inicio temprano del TAF, de igual forma, la implementación de programas institucionales de administración de antifúngicos tiene el potencial de promover la utilización adecuada de agentes antifúngicos y mejorar significativamente la atención de los pacientes con infección por *Candida*.

1. Generalidades sobre las especies de *Candida*

Clasificación taxonómica

En los últimos años y debido al creciente desarrollo en las técnicas de biología molecular y secuenciación de ADN, la taxonomía de los hongos causantes de infecciones en humanos ha tenido cambios constantes y significativos lo que ha permitido avanzar en el conocimiento de las relaciones filogenéticas entre estos microorganismos. El número de especies fúngicas potencialmente patógenas ha sufrido un espectacular aumento, siendo muchas de ellas especies crípticas, y forman parte de complejos de especies que han sustituido a lo que antes eran consideradas como simples morfoespecies (1).

La clasificación taxonómica del género *Candida* lo incluye en: el Super reino *Eukariota*; Reino *Fungi*; División *Ascomycota*; clase *Saccharomycetes*; orden *Saccharomycetales*; familia *Endomycetaceae*.(1).

Aspectos generales

El género *Candida* se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza, es posible recuperarlo del medio ambiente, humanos y otros mamíferos. Es un hongo polimórfico debido a que puede presentar morfología de levadura o bien, crecer como hongo filamentoso formando hifas verdaderas. En el ser humano se encuentra como comensal en el tracto respiratorio e intestinal, en sistema genitourinario, en mucosa bucal, y también en piel, donde reside con mayor frecuencia en los pliegues naturales debido a la condición habitual de humedad. Este microorganismo tiene la facultad de adquirir una condición patógena, desde un estado de saprofitismo simple, pasando por el comensalismo hasta la situación de patógeno. Bajo ciertas condiciones y en el

hospedero susceptible, es capaz de causar infecciones superficiales y sistémicas, siendo el hongo patógeno principal del ser humano.

1.1 Distribución Geográfica

En todo el mundo, *C. albicans* continúa siendo el aislamiento más frecuentemente encontrado en muestras clínicas sin exclusión geográfica. Sin embargo, entre las diferentes especies *no albicans* que en los últimos años han demostrado un importante crecimiento, se describen variaciones significativas en cuanto a la frecuencia de los aislamientos dependiendo de la zona geográfica, es así que en E.U.A y Europa existe un claro predominio de *C. glabrata*, en cambio, en América Latina los aislados más frecuentes son *Candida parapsilosis* y *Candida tropicalis* (2)

Especies de *Candida*

En los últimos años, y mucho tiene que ver la introducción de nuevos fármacos antifúngicos, se ha observado un cambio en la epidemiología de las infecciones por *Candida*, con un aumento de las especies *no-albicans* en infección fúngica invasora. Aunque hay más de 150 especies, pocas son patógenas para el ser humano (3) Sin embargo, *C. albicans* todavía se considera como el principal patógeno asociado representando más de la mitad de todos los casos, *C. glabrata* se ha convertido en la segunda causa más común de CI en los Estados Unidos, igualmente es evidente que están emergiendo varias especies de *Candida* menos comunes que exhiben resistencia a los triazoles y anfotericina B (AmB) (4). Se ha informado que más de 17 especies de *Candida* son agentes etiológicos de CI en humanos (5) (6).

A pesar de que más del 90% de las infecciones invasivas de *Candida* spp. se atribuyen a cinco especies: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei*; la lista de especies notificadas sigue creciendo. Aunque las tasas de

crecimiento de especies como *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. lusitaniae* y *C. famata*, no varían significativamente, las especies resistentes a FCZ *C. rugosa*, *C. inconspicua* y *C. norvegensis* registran un aumento significativo en su distribución (7). Ahora bien, la descripción de una especie emergente como *Candida auris*, cuya importancia clínica evidentemente está asociada a la alta mortalidad, y opciones de tratamiento limitadas debido a la multiresistencia a antifúngicos, nos obliga a realizar un seguimiento del comportamiento epidemiológico

1.2 Descripción Fisiológica

Son hongos unicelulares, eucariotas y poseen un núcleo con un genoma de 16 Mb (haploides) organizado en 8 cromosomas (diploides), se reproduce principalmente a través de una división clonal asexual. No obstante, ha conservado gran parte de la maquinaria necesaria para el apareamiento y la meiosis, aunque nunca se ha observado la meiosis (8). Aunque la comparación de los genomas de diferentes cepas de *C. albicans* ha producido datos muy valiosos, la genética comparativa de diferentes cepas de especies emergentes de *Candida* hasta ahora nunca se ha realizado (9).

Para tener en cuenta dada su implicación en el diagnóstico y tratamiento:

Pared celular

La pared celular siendo la estructura de presentación del hongo establece el primer contacto con las células y el sistema inmune del hospedero. Es fundamental en su viabilidad y patogenicidad, le provee morfología celular, facilita el intercambio de iones, la filtración de proteínas y participa en el metabolismo y catabolismo de nutrientes complejos, y es responsable de: (1) Entrar en contacto con las células hospedero; (2)

portar importantes determinantes antigénicos del hongo; (3) se encarga de la adherencia del patógeno; (4) establece una diafonía con el anfitrión, que depende de lo que se conoce como “el código de glucano”, que incluye modificaciones en la composición química y en los enlaces de los polisacáridos de la pared celular. A partir de estas interacciones, el resultado será el desarrollo de un estado patogénico, o el desarrollo de una reacción resistente por parte de hospedero. (10)

Desde el punto de vista estructural está compuesta por: polisacáridos (80 al 90%) , proteínas (6 a 25%) , lípidos (1 a 7%) (11), pigmentos y sales inorgánicas en cantidades menores.

Las investigaciones a nivel estructural han descrito cinco capas dentro de la pared celular del hongo las cuales son (de adentro hacia afuera): Manoproteínas, β -Glucan-Quitina, β -Glucan, Manoproteínas y una capa de fibrillas.

Los componentes mayores:

- **La quitina:** polímero no ramificado formado por unidades de N-acetil-glucosamina (GLcNAc) unidos por enlaces β --1,4. La asociación antiparalela de las cadenas de quitina y su formación de microfibrillas a través de enlaces de hidrógeno la convierten uno de los productos naturales más insolubles, y esto explica porque sus enlaces a β --1,3-glucano forman el andamiaje básico de la pared celular al que las manoproteínas se asocian covalentemente.
- **El glucano:** son los polisacáridos más abundantes presentes en la pared celular de los hongos en general, son polímeros de restos de glucosa unidos por enlaces - β -1,3 y/o β -1,6 glicosídicos (12). También enlaces β -1,4, α -1,3 y α -1,4. El β -1,3-D-glucano es el componente estructural más importante de la pared celular(13). Los glucano participan en el plegamiento correcto, estabilidad, conformación, vida media circulatoria y función de las proteínas;

esto último al formar parte del sitio activo de la proteína o bien como elemento regulador de la interacción glicoproteína-ligando(14) (15)

- **El manano:** Se componen por manosas, unidas por enlaces glucosídicos de los tipos; α -1,6, α -1,2, α -1,3 y β -1,3. Dentro de ellos se encuentra el galactomanano formado por unidades de β -D-manopiranosas unidas por enlace 1,4 con ramificaciones a α -D galactopiranosas unidas por enlace 1,6 (13) (15). Los polímeros de manosa (mananos) que no existen como tales pero que se encuentran en asociación covalente con proteínas (manoproteínas), representan aproximadamente el 40% de del polisacárido total de la pared celular y son el material principal de la matriz de la pared celular (11) (16). Están implicadas en la adherencia a los tejidos del hospedero y son diferentes en su expresión, secreción y localización dentro de la estructura de la pared.

Los componentes menores:

- **Las proteínas:** La mayoría de las proteínas están asociadas a glúcidos por enlaces O - N, formando glicoproteínas. Las proteínas de la pared tienen diversas funciones, participando en el mantenimiento de la forma celular, interviniendo en los procesos de adhesión (Als y Hwp1), protegiendo a la célula de sustancias extrañas, participando en la absorción de moléculas, transmitiendo señales al citoplasma y sintetizando y remodelando los componentes de la pared (13).
- **Los lípidos:** Constituyen componentes menores de la pared celular de los hongos en general. Un lípido interesante de la pared celular de *C. albicans* es el fosfolipomanano, que reacciona con anticuerpos específicos para β -1,2-oligomanósidos. Se ha sugerido que este compuesto pueda tener cierta relevancia en la adhesión, protección y señalización en *C. albicans* (10)

Membrana celular

La membrana celular es una estructura que reviste gran interés ya que es portadora de sitios diana sobre los cuales actúan un grupo importante de antifúngicos, además de contener las enzimas responsables de la síntesis de la pared celular. Presenta una doble capa de lípidos y posee invaginaciones, que se observan como surcos de 200 a 300 nanómetros de longitud, por 35 a 40 nanómetros de espesor. Además de los lípidos, la membrana citoplasmática está compuesta por grandes cantidades de proteína y carbohidratos en menor proporción (17)

Cabe destacar por su relevancia clínica y su papel fundamental en la respuesta terapéutica:

- **El ergosterol:** es el componente lipídico de la membrana sobre el cual actúa la mayoría de los fármacos antifúngicos. Es el esteroide que predomina en las células fúngicas y, entre sus funciones, da fluidez e integridad a la membrana, permite la función adecuada de muchas enzimas unidas a ella y, al favorecer la función de la quitina sintetasa, permite el crecimiento y la división celular. Las levaduras y los hongos filamentosos, presentan, gemaciones o células hijas, por lo que es preciso que la membrana sea bastante dinámica (18)

Desarrollo y Crecimiento

Respecto a las concentraciones de oxígeno para su crecimiento, generalmente las levaduras del género *Candida* se desarrollan en condiciones aerobias, sin embargo, pueden crecer como anaerobios facultativos y expresar las formas de pseudohifas y clamidosporas en ambientes de elevada concentración de CO₂ y bajas concentraciones de O₂, en donde se favorece la formación de estas estructuras.

Con amplios rangos de crecimiento en temperatura (10 °C a 40 °C) y poco exigentes en cuanto a pH (2 a 9) (11) las levaduras de *Candida* son de relativamente fácil aislamiento.

Las diversas especies de *Candida* crecen en la mayor parte de medios de cultivo habituales, como: sabouraud agar, sangre TSA, infusión de cerebro-corazón y extracto de levadura. Es importante saber que *C. albicans* y *C. dubliniensis* crecen en los medios de sabouraud más antibióticos, sin embargo, algunas otras especies son inhibidas por la cicloheximida (*C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* y *C. zeylanoides*)(19)

Estados morfológicos de *Candida*

Los estudios relacionados a la virulencia atribuida a las diferentes morfologías del género *Candida* se han realizado en *C. albicans* teniendo en cuenta que es el principal patógeno fúngico humano como lo refieren muchos autores. *C. albicans*, experimenta una transición morfológica desde células de levadura únicas en gemación ovoide (blastoconidias), hasta filamento como células elipsoidales alargadas, que permanecen unidas en un sitio de separación restringido (seudohifas), o como células alargadas unidas de extremo a extremo (hifas). El hongo también puede formar clamidosporas, estructuras parecidas a esporas, producidas en distintas condiciones, de función biológica aún desconocida (20).

Se sabe que esta transición ocurre en respuesta a la variedad en señales inductoras presentes en el entorno del hospedero, que incluye suero, temperatura corporal (37°C), pH neutro, aminoácidos y ciertas hormonas humanas. Uno de los más fuertes conjuntos de condiciones inductoras de filamento es la combinación de temperatura corporal (37°C) y suero. Estas condiciones desencadenan una vía de transducción de señales que finalmente resulta en la activación de un complejo programa transcripcional importante para el crecimiento filamentoso y la virulencia (21).

Debido a que las infecciones típicas de *C. albicans* contienen una mezcla de estas morfologías, durante muchos años ha sido difícil evaluar la contribución de cada forma a la virulencia. Además, los mecanismos reguladores que determinan el crecimiento en las morfologías pseudohifal e hifal son en gran parte desconocidos.

A pesar del hecho de que los fenotipos de *C. albicans* hifas y pseudohifas se han caracterizado bien, se sabe mucho menos sobre los determinantes genéticos para el crecimiento en cada forma o cómo estas formas difieren a nivel molecular (22).

Las células de levadura típica pueden inducirse a formar verdaderas hifas, que crecen por extensión apical continua seguido por septación. Las pseudohifas crecen de manera diferente a las verdaderas hifas, por gemación unipolar: los brotes se desarrollan alargando las células, que permanecen unidas a la célula madre, se detienen en su crecimiento y reinician en ciernes. Las clamidosporas por su parte, son células esféricas de paredes gruesas y se desarrollan en pseudohifas como células de soporte (23).

Es importante considerar que, así como estos distintos estados morfológicos contribuyen a la virulencia, son determinantes también en los diferentes momentos de patogenicidad del hongo. (Ver tabla 1)

Tabla 1. Papel de la morfología de *Candida spp.* En el proceso de colonización y diseminación a tejidos del hospedero.

Morfología	Funciones
Levadura	1. Colonización de superficies mucosas, adhesión a superficies del hospedero y producción de <i>biofilm</i> 2. Diseminación a los tejidos del hospedero.

Seudohifa	1. Mejor asimilación de nutrientes 2. Probable motilidad
Hifa	1. Invasión de tejido del hospedero y de la capa mucosa de las células epiteliales 2. Deterioro de las células endoteliales 3. Lisis de macrófagos y neutrófilos 4. Tigmotropismo 5. Variación antigénica

Factores de virulencia de *Candida*.

Candida spp. Considerado como uno de los hongos patógenos más oportunistas, puede pasar de un estado saprófito inofensivo a patógeno agresivo. El debilitamiento de los mecanismos de defensa del hospedero y la capacidad del hongo de adaptarse rápidamente al entorno que prevalece en los tejidos del hospedero convergen para desarrollar un estado infeccioso.

Los hongos no son agentes pasivos en un proceso infeccioso. La interacción entre el hongo y el medio ambiente está afectada por su variabilidad genética, el cambio fenotípico y la transición dimórfica (24). Este agente es capaz de invadir tejidos y evadir la fagocitosis; lo cual, denota un arsenal amplio de factores de virulencia, que se manifiestan en infecciones a tejidos profundos. Entre esos factores se citan la expresión de enzimas invasivas (proteinasas, esterases, proteasas aspárticas secretoras y fosfolipasas) (25), la capacidad de adherencia a la superficie de las células del hospedero (biomoléculas de reconocimiento del hospedero-adhesinas), la transición de fase-morfogénesis (o la transición reversible de células de levadura a crecimiento filamentoso) y la producción de tubo germinativo (24) (25), tolerabilidad a las condiciones del medio ambiente y finalmente, la capacidad de formar *biofilms* (comunidades microbianas estructuradas con altos niveles de resistencia a los medicamentos).

Entre los que se destacan están:

Enzimas

- **Proteinasas:** Enzimas como la proteinasa ácida o carboxilproteína extracelular, su secreción está asociada con la capacidad de adherirse y colonizar el tejido del hospedero habiéndose demostrado su papel en la invasión y destrucción del tejido del hospedero (26)
- **Proteasas:** Las levaduras médicamente importantes del género *Candida* secretan proteasas aspárticas (Saps) codificadas por los genes de la familia SAP que cuenta con diez miembros. La contribución de las Saps se ha demostrado ampliamente, y son de particular interés debido a que son el factor clave al causar daño en la mucosa del hospedero en las etapas iniciales de la invasión del microorganismo en el epitelio (27), proporciona al hongo un sistema proteolítico eficiente y flexible que puede garantizar su éxito como patógeno oportunista.

La presencia de los genes de la familia SAP es única en las especies patógenas de *Candida* y está ausente en las levaduras no patógenas *S. cerevisiae*, lo que apoya que estas proteinasas están implicadas en su virulencia (24)

- **Esterasas:** Los estudios realizados sobre una esterasa de *C. albicans* A-714 que existe predominantemente en el espacio extracelular, demostraron que el nivel de inducción de la actividad esterasa se correlacionaba bien con el crecimiento fúngico. Aunque las propiedades fisiológicas de esta esterasa aún no son claras, se descubrió que era crucial para el crecimiento de hongos en condiciones específica (28)

- **Fosfolipasas y lisofosfolipasas:** Se han identificado cuatro fosfolipasas (PLA, PLB, PLC y PLD), de las cuales la PLB1 ha demostrado ser necesaria para la virulencia en modelo animal de candidiasis. Tiene actividad de hidrolasa y de lisofosfolipasa-transacilasa. Se detecta y secreta en la punta de las hifas durante la invasión de los tejidos. La presencia de fosfolipasas y lisofosfolipasas son muy importantes para el crecimiento de la levadura y para la remodelación de la membrana celular, de igual forma también implicadas en el mecanismo de invasión del tejido del hospedero (24)

Cabe destacar que la presencia de fosfolipasas se detectó únicamente en *C. albicans* dentro de un grupo de cepas de diferentes especies analizadas, por lo que se reafirma su mayor potencial de virulencia frente al resto de especies (29)

Expresión diferencial de genes en respuesta al medio ambiente

Candida es un conocido tolerante de diferentes ambientes dependiendo de las condiciones provistas por los tejidos del hospedero, son variadas sus ubicaciones como comensal sin causar invasión o infección. Es así que *Candida* expresa genes que codifiquen para factores de virulencia que reflejan la adaptación a un amplio rango de condiciones ambientales, en las que el hongo se encuentra en crecimiento in vivo.

Candida muestra expresión diferencial de genes en respuesta al pH del medio, lo que puede ser importante para su patogénesis. El gen PHR1 codifica para una glicoproteína de superficie y se expresa cuando el pH del medio de crecimiento es mayor a 5.5, su principal función se asocia con la síntesis de la pared, cuya expresión es óptima en pH cercanos a la neutralidad, como el que existe en el torrente sanguíneo o en los tejidos. En cambio, para pH más ácidos cercanos a 4.0 se identificó el gen PHR2. Con esta información se demostró que *Candida* asegura su

supervivencia en el medio ambiente hostil de la sangre y cómo el hongo escapa del torrente circulatorio como paso esencial en su diseminación sistémica (24) (30)

Morfogénesis

Si consideramos que la mayoría de los patógenos fúngicos sistémicos humanos son dimórficos, el papel de la morfología en la virulencia es supremamente relevante en la patogenia fúngica. Teniendo en cuenta, que en las infecciones causadas por *Candida* es típico encontrar no solo células levaduriformes sino también estados pseudohifal e hifal.

Durante mucho tiempo se pensó que la forma de hifa podía representar el estado patógeno de *Candida* y que la forma de levadura era avirulenta. Sin embargo, estudios posteriores revalidaron la capacidad virulenta dependiendo del estado morfológico y concluyeron que la capacidad de cambiar entre las formas de levadura y de hifa, en lugar de las morfologías individuales, per se, es el principal determinante en el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, a pesar de esta aceptación generalizada, “actualmente no hay datos moleculares que establezcan inequívocamente un papel para la morfogénesis de levadura a hifa como factor de virulencia en *Candida*” (22) (31). La forma de levadura puede, de hecho, representar la forma diseminadora del organismo (al menos del torrente sanguíneo) y, por lo tanto, juega un papel crítico en las primeras etapas del proceso de infección (31)

Biomoléculas de reconocimiento del hospedero-adhesina

Conceptualmente la adherencia del microorganismo a los tejidos del hospedero debe ser uno de los primeros pasos en el proceso de la enfermedad. Mucho se ha debatido acerca de la cuestión sobre los mecanismos que median la adherencia del hongo, incluido factores ambientales y biofísicos que influyen en la unión de la levadura a las células epiteliales, entre estos están; la hidrofobicidad de la superficie celular, pH y el

nivel de CO₂ (32). La interacción del organismo con las células de la mucosa es el evento crítico inicial en el desarrollo de candidiasis, adicional a esto, la adhesión a dispositivos médicos permite la formación de biopelículas.

Los componentes proteicos de la pared celular involucrados en esta unión, se han designado como adhesinas y el componente que es reconocido en el hospedero por este microorganismo se conoce como ligando o receptor (33)

Entre los genes mejor caracterizados que codifican adhesinas en *C. albicans* están: 1. La familia de genes ALS (*agglutinin-like sequence*) que codifica un grupo de proteínas de superficie celular unidas a glicosil-fosfatidil-inositol (GPI) y 2. Los genes HWP1 (*hyphal wall protein*) codifican otro tipo de adhesinas específicas de hifas (34)

El reconocimiento de las células epiteliales se realiza a través de manoproteínas de superficie (adhesinas) que se unen a receptores que contienen carbohidratos. Entre las manoproteínas identificadas y descritas están: MP37, MP42, MP55, MP58, MP60, MP66, MP67, MP70, MP130 y MP165, entre otras. También es claro que, *Candida* reconoce múltiples tipos de células del hospedero como queratinocitos, células endoteliales y algunas proteínas de la matriz extracelular, entre ellas: fibronectina, laminina, colágeno, C3 complemento, fibrinógeno y entactina y, por tanto, parece poseer una adhesina de superficie tipo integrina (35)

Los estudios realizados sobre estas moléculas de adhesión a una variedad de células hospedadoras ligandos de células hospedero y plásticos han sido descritas ampliamente y demuestran ser diversas, lo que refleja la capacidad del organismo para colonizar e invadir una variedad de células y tejidos del hospedero (36). Los ligandos de la célula hospedero reconocidos también son diversos; pero parecen estar ampliamente clasificados en al menos dos tipos, glucósidos (fucosido u otro), y en

parte, los péptidos (ácido arginina-lisina-aspartico) de varias proteínas de la matriz celular (37) (38) (39)

Formación de *biofilm*

El agente etiológico más común de infección por *biofilm* relacionado con hongos es *C. albicans*, comúnmente se adhiere a dispositivos médicos implantados, creciendo como una biopelícula resistente, capaz de soportar concentraciones antifúngicas extraordinariamente altas.

Dispositivos médicos permanentes, tales como catéteres intravasculares, pueden colonizarse con *Candida* permitiendo el desarrollo de estructuras de *biofilm* adherentes a partir de las cuales las células pueden desprenderse y causar una fungemia aguda y/o infección diseminada. Se ha demostrado que las células que se desprenden de la biopelícula se asocian con una mayor mortalidad (40)

Quorum sensing

Se trata del factor de virulencia que precede al cambio de morfología y a la producción de Saps. Es un mecanismo que sirve de comunicación entre las células fúngicas y con el medio ambiente físico y químico que permanece. Lo que permite desarrollar un comportamiento de tipo cooperativo, la detección del quórum no solo regula la morfología (paso de levadura a hifa), sino que también puede dirigir la invasión profunda de los tejidos, paralela casi sincronizada de las hifas (41)

Moduladores de la respuesta inmune

Las proteínas de *Candida* expresan similitud antigénica y funcional a los receptores del complemento C3 y C4, que son análogos de integrinas. Así, debido a que, *Candida* tiene receptor para estos componentes del complemento, puede evadir la fagocitosis (42). Además, *Candida* induce inmunosupresión a través de liberación de IL-10

mediada por TLR2 lo cual lleva a generación de CD₄ y CD₂₅T, reguladores con potencial inmunosupresor (43)

1.3 Patogénesis

Aspectos generales de la infección por *Candida*

Partiendo del hecho de que las infecciones causadas por hongos revelan una elevada tasa de morbilidad y conllevan a un consumo elevado de recursos para su prevención, diagnóstico y tratamiento, es de vital importancia conocer la patogenia del hongo y la respuesta del hospedero frente al invasor infeccioso.

Candida spp. es un microorganismo con gran capacidad de adaptación a diferentes ambientes y ésta es una propiedad que le brinda la posibilidad de transformarse de un comensal inofensivo a un agente patógeno. *C. albicans* puede colonizar la piel y las superficies de mucosas de personas saludables a menudo causando infecciones superficiales. Además, puede ingresar al torrente sanguíneo por penetración directa del epitelio después de un daño tisular o, por diseminación de *biofilms* formados en los dispositivos médicos instalados en el paciente (catéteres, implantes dentales, endoprótesis, derivaciones de articulaciones artificiales o del sistema nervioso central). Luego las células de levadura se diseminan con el flujo de sangre e infectan órganos internos causando fungemia y sepsis (44) (45)

Para que la infección fúngica se instale en el hospedero es necesario que éste atraviese por una alteración del estado inmunológico defensivo, daño en sus barreras naturales (piel y mucosas) y/o el tamaño del inóculo fúngico. Un desequilibrio entre la inmunidad del hospedero y el patógeno oportunista desencadena una infección fúngica.

La infección por *Candida* se desarrolla siguiendo una serie de etapas, iniciando con colonización, adhesión, invasión y finalmente daño, describiendo así la patogénesis de *Candida* spp. Durante estas etapas se desata un proceso de inflamación, característico de la enfermedad fúngica. Sin embargo, no es absolutamente claro, cuál de estas etapas es verdaderamente característica para la patogenia y se puede tomar como representativa de la transición desde una interacción comensal a una parásita con el hospedero (41).

Describiendo paso a paso:

- **Colonización**

Candida spp., es un patógeno fúngico que coloniza la piel y superficies de la mucosa de la mayoría de las personas sanas, siendo un comensal inocuo y sin representar algún riesgo de infección. Debido en gran parte, a los avances en la industria farmacéutica con la producción de antibióticos de amplio espectro, así como los trasplantes de órganos y la utilización de potentes inmunosupresores, a estados de inmunodepresión primaria o adquirida, al uso prolongado de esteroides y a la aparición de enfermedades muy debilitantes, como es el caso de los pacientes infectados por el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y posterior SIDA, la población está a merced de una posible infección limitada y localizada o lo que es peor, susceptible a una infección generalizada.

En el ámbito hospitalario, la colonización se define como la presencia de una o más cepas de *Candida* spp., en una o más muestras no estériles (mucosa oral, hisopado rectal, hisopado vaginal, pliegues cutáneos, orina, catéteres), con o sin signos de infección diseminada.

No es claro si la proliferación comensal de *C. albicans* en la superficie de las mucosas se produce principalmente en la capa mucosa, como otros miembros de la flora microbiana, o si las células fúngicas están en contacto físico con células epiteliales (41)

- **Adhesión**

La adherencia de la célula fúngica al epitelio del hospedero constituye en sí, el primer paso importante del proceso de patogenia de *Candida*; ya con un proceso inflamatorio iniciado en la etapa de colonización. Esta adhesión se produce por la interacción entre la levadura y los receptores de las células epiteliales (46) (47)

- **Invasión**

La invasión del hongo a las células hospedadoras es clave en la patogenia de la infección por *Candida*, es en este escenario donde el hongo sobrepasa las barreras naturales del hospedero y se consolida como patógeno oportunista. En esta etapa, se activan factores de virulencia que permiten la invasión de los tejidos y la prevención de los mecanismos de defensa del hospedero. Las enzimas hidrolíticas cumplen un papel determinante en esta etapa de la patogénesis, dentro de estas, las proteinasas aspárticas secretadas (Saps) contribuyen a la invasión del tejido al digerir o destruir las membranas celulares y al degradar las moléculas de la superficie del hospedero, también se ha documentado que estas enzimas hidrolíticas pueden atacar las células y las moléculas del sistema inmune del hospedero para evitar o resistir la acción antimicrobiana (48)

La invasión en células endoteliales o epiteliales también beneficia al hongo ocultándolo de fagocitos profesionales, como neutrófilos y macrófagos (49)

El paso activo de la célula fúngica en fase de levadura a las células del hospedero está mediado por dos mecanismos diferentes: La endocitosis inducida y la penetración activa (41) (49) aunque algunos investigadores adicionan a este proceso un tercer mecanismo, a través de una ruta paracelular que implica la digestión proteolítica de las uniones estrechas entre las células epiteliales (50)

- **Daño**

El daño se ocasiona cuando las hifas del hongo invaden a profundidad o a través de las células del hospedero, y se ve potenciado por los factores de virulencia de éste. Sin embargo, el daño del tejido no solo ocurre por la actividad directa del hongo, además de este, otro elemento a tener en cuenta es la respuesta inadecuada del sistema inmune, por ejemplo; la infiltración masiva de neutrófilos, o tal vez, una respuesta sistémica desequilibrada que amenaza la vida. Hecho que deja entrever que el daño y la enfermedad son consecuencia de una participación dual patógeno-hospedero.

2. Epidemiología de la Candidiasis Invasora

2.1 Comportamiento global

La presentación continua de casos de candidemia en pacientes críticos en UCI, demuestra el aumento significativo de las micosis invasoras, con una prevalencia global del 19% es considerada como la 4ª causa de ITS en Estados Unidos y Europa en estas unidades y representa entre el 70%-90% de todas las EFI (2) (4) (51) (52) (53)

Se estima que la candidemia/CI afecta a más de 250.000 pacientes en el mundo y se determina como la causa de muerte en más de 50.000.

La incidencia de candidemia oscila entre 2 y 6.7 por 1.000 admisiones (53). Europa reporta incidencias entre 1.4-5-7 por cada 100.000 habitantes (0.2-0.38 casos por 1000 admisiones), excepto España y Dinamarca donde las cifras son superiores. El estudio CANDIPOP realizado entre mayo de 2010 y abril de 2011 en 29 hospitales en España, reveló una incidencia de 0.89 por 1000 admisiones (54). Estado Unidos reporta una incidencia de 6-10 casos por 100.000 habitantes (0.28-0.96 casos por 1000 admisiones) (4). Australia y Canadá reportan cifras de 1.8 y 2.9 casos por 100.000 habitantes respectivamente (52) (55).

En América Latina la incidencia es variable; en un estudio realizado por Nucci y col., entre los años 2008 y 2010 en 21 hospitales en 7 países que incluía a Argentina, Brasil, Colombia, Chile, Ecuador, Honduras y Venezuela, se observó una incidencia global de 1.18 por 1000 admisiones, observándose la menor incidencia en Chile con 0.33 por 1000 admisiones y la más alta del grupo estudiado, en Colombia con 1.96 por 1000 admisiones (2).

En el estudio SCOPE, *Candida* es el tercer microorganismo aislado de hemocultivo en UCI y su mortalidad atribuible llega a ser del 25-38% (51). En la mayoría de estudios demográficos, la candidemia se sitúa entre la séptima y la décima ITS.

En Colombia, la prevalencia de candidemia en UCI reportada por Cortes y col. fue de 1.4-5.2%, con tasas de infección de 2.3 casos por 1.000 días de hospitalización (56) (57). El grupo GREBO, reportó que, los aislamientos de *Candida* spp. ocuparon el sexto lugar en prevalencia, adicionalmente, estableció una mortalidad global de 36%, asociada a la edad y a la presencia de choque séptico, al momento del diagnóstico de la candidemia (57)

Es importante tener en cuenta que las variaciones en la incidencia de acuerdo a la localización geográfica probablemente se relacionen con las características demográficas y con el manejo médico propio de cada unidad de cuidado crítico como: guías de manejo en cuanto a dispositivos médicos y terapia antimicrobiana y antifúngica de manejo de infección y/o profiláctica.

Otro aspecto de consideración que explica esta variación en la incidencia es la frecuencia con que son solicitados estos análisis al laboratorio clínico y la disponibilidad de pruebas que arrojen resultados inmediatos sobre el riesgo de una micosis invasora, y causar demoras en la toma de decisiones en cuanto a tratamiento anticipado.

2.2 Distribución de especies

Aunque *C. albicans* sigue siendo la especie que con mayor frecuencia es reportada (38-70% de los casos) y relacionada como la principal causa etiológica de candidemia y CI, el comportamiento observado a nivel mundial es el constante y progresivo

aislamiento de especies no *albicans*. Los resultados obtenidos por el estudio de vigilancia *Sentry* en el que se incluyen centros médicos de Estados Unidos, Canadá y Suramérica realizado hacia fines de la década de 1990 mostraron que la distribución de especies de *Candida* en los aislamientos obtenidos en ITS fue del 53.3% para *C. albicans*, del 15,7% para *C. parapsilosis*, del 15.0% para *C. glabrata*, del 7.8% para *C. tropicalis*, del 2.0% para *C. krusei*, 0.7% para *C. guilliermondii*, y 5.8% para *Candida* spp. Sin embargo, la distribución de las especies, varió marcadamente por país (58).

Recientemente el centro CIDEIM y colaboradores, en un estudio realizado en Colombia entre el 2010 y 2013 en el cual participaron 20 instituciones de tercer nivel de atención, muestra datos sobre el cambio en la distribución de especies que viene presentando la epidemiología de la CI en Colombia. Si bien es cierto, el 48.3% de los aislamientos corresponden a *C. albicans*, el 51.3% pertenecen a aislamientos de *Candida* no-*albicans* discriminados de la siguiente manera: *C. tropicalis* 20%, *C. parapsilosis* 14.7%, *C. glabrata* 7.5%, *C. haemulonii* 1.9%, *C. lusitaniae* 1.7%, *C. krusei* 1.4%, *C. guilliermondii* 0.8% y *Candida* spp. 3.7% (59)

El grupo *Germen*, reportó que de 22.630 hemocultivos tomados entre 2010-2011, se obtuvo aislamiento de *Candida* spp. en un 3.3% de los casos, siendo *C. albicans* la más prevalente (38,7%), seguido por *C. parapsilosis* (20,9%), *C. tropicalis* (16,1%) y *C. glabrata* (12,2%). El grupo *GREBO* (57) reportó que en general, los aislamientos de *Candida* spp., ocuparon el sexto lugar en prevalencia, con una tendencia de aislamientos por *C. no-albicans*, adicionalmente, estableció una mortalidad global de 36%, asociada a la edad y a la presencia de choque séptico, al momento del diagnóstico de la candidemia. (60)

De especial interés, *Candida auris*, una especie críptica que ha surgido como especie emergente, considerada como una amenaza global por su capacidad de desarrollar resistencia a múltiples antifúngicos y con un gran potencial para la transmisión a nivel nosocomial, su prevalencia puede estar subestimada, debido a que los métodos automatizados convencionales, no logran identificarla correctamente, por lo que son necesarios métodos moleculares o proteómicos; la aparición de una candidemia por *C. auris* depende probablemente de las condiciones de los pacientes, el control de la fuente de infección y el inicio de una adecuada terapia antifúngica.

2.3 Poblaciones de riesgo

En general, las poblaciones susceptibles son principalmente aquellas que advierten características de alto riesgo como: Pacientes con neoplasias hematológicas, los inmunocomprometidos (HIV-Sida y otros), pacientes en edades extremas de la vida (neonatos de bajo peso y los pacientes de edad avanzada), pacientes post operatorios de cirugías extensas (principalmente abdominal), pacientes sometidos a procedimientos diagnósticos y terapéuticos invasores (hemodiálisis, quimioterapias, etc.) y aquellos que en condición crítica requieren soporte multisistémico e internación en unidades de cuidado intensivo. Sin embargo, una población de consideración especial son los pacientes quemados y aquellos con trasplante de órganos y tejidos. (Ver Tabla 2)

Tabla 2. Factores condicionantes y poblaciones de riesgo CI/candidemia

Factores de riesgo generales:	• Gravedad de la enfermedad aguda. • Edad: < 1 año o > 65 años. • Comorbilidades: Diabetes mellitus, cirrosis, malnutrición, etc. • Cirugía (gastrointestinal) previa. • Estancia prolongada en UCI. • Dispositivos invasivos. • Transfusiones múltiples. • Nutrición parenteral. • Catéter vesical. • Ventilación mecánica.
Condicionantes interindividuales o población de mayor riesgo:	• Uso prolongado de CVC. • Antibióticos de amplio espectro. • Colonización previa por <i>Candida</i> spp. • Insuficiencia renal y/o hemodiálisis. • Neutropenia. • Quimioterapia, corticoides e inmunosupresores. • Pancreatitis, perforación visceral, etc. • Politraumatismo. • Gran quemado. • Neonato con corta edad de gestación, Apgar bajo, uso de anti-H₂, malformaciones congénitas, enfermedad gastrointestinal o choque.

UCI: Unidad de cuidados intensivos; CVC: Catéter venoso central.

Adaptado de: Pemán J y col. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2012; 30(2):90–8

2.4 Impacto en paciente crítico

Los pacientes críticos son más susceptibles de adquirir una CI debido a su condición de soporte multisistémico (ventilación mecánica, catéter venoso central, nutrición parenteral total, etc.), son pacientes que requieren el uso de antibióticos de amplio espectro y por tiempos prolongados, además de inmunosupresores y citostáticos según su patología. Por todo esto, el paciente crítico representa un reto a la hora de prevenir una infección fúngica invasora, debido a que su diagnóstico temprano se basa en una alta sospecha clínica.

La CI es una patología importante en el paciente crítico, dada su elevada frecuencia, mortalidad y su asociación a una estancia hospitalaria prolongada con incremento en costos de atención.

En un estudio SENTRY realizado entre 1997 y 1999 en el cual se evaluaron las ITS en Estados Unidos, Canadá, Latinoamérica y Europa encontraron que las candidemias constituían el 3% de todas las infecciones sanguíneas comunitarias y el 9% de las nosocomiales. Igualmente vieron que *Candida* spp. ocupaba el 4° lugar de los agentes etiológicos más frecuentes (61)

Más recientemente en 2012 en un estudio realizado en España, reveló una tasa de candidemia de 0,5 a 1,5 episodios por cada 1.000 ingresos. Aproximadamente un tercio de las candidemias que se diagnostican en un hospital tienen lugar en pacientes que fueron ingresados a UCI. En general, se admite que la incidencia en la UCI es 7 a 10 veces superior a la de las salas generales, médicas o quirúrgicas (62) (63)

Las micosis invasoras revelan una mortalidad cruda muy elevada, descrita entre el 40 al 70% e incluso al 100% , y una mortalidad atribuible del 20 al 40% (51) (64)

3. Espectro Clínico de la EFI

La EFI se considera como una infección de tipo oportunista que se presenta en un grupo específico de pacientes, aquellos con características de inmunosupresión independiente de la causa de origen y en los pacientes críticos, revelando una morbimortalidad cada vez más preocupante ya que su presentación es de difícil reconocimiento debido a que tanto los síntomas como los signos clínicos son inespecíficos. De aquí, la importancia de establecer definiciones, criterios y factores de riesgo, que en conjunto nos orienten a un diagnóstico sin demora o a tomar decisiones en cuanto a tratamiento. Recientemente, la EORTC/MSG (*European Organization for Research and Treatment of Cancer/Mycoses Study Group*) y el NIAID (*National Institute of Allergy and Infectious Disease*) han considerado tres pilares para el diagnóstico de las EFIs.

- Factores predisponentes en el hospedero
- Elementos clínico-radiológicos
- Hallazgos de laboratorio

Definición de EFI

La EFI se define como la infección causada por especies fúngicas oportunistas. Por su carácter de oportunista es necesario tener claridad al estratificar la condición del hospedero (65)

- **EFI Posible:** Cuando existen factores de riesgo del hospedero y evidencia clínica de EFI sin criterios micológicos positivos. Existe, al menos, un criterio relativo al hospedero más un criterio microbiológico. (ver Tabla 3)
- **EFI Probable:** Cuando existe al menos, la suma de, un criterio relativo al hospedero más un criterio micológico más un criterio clínico. (ver Tabla 3)

- **EFI Probada:** Cuando existe evidencia por histopatología. Es decir, histopatología positiva con hifas o esporas a partir de una biopsia o de un aspirado con aguja, con evidencia de lesión hística asociada o con cultivo microbiológico positivo de una zona estéril con clínica o radiología compatible con infección.

Existen numerosas especies fúngicas oportunistas capaces de colonizar e infectar al hospedero si las condiciones de este son propicias, dentro de las principales EFIs destacamos la CI que es el objeto de nuestro estudio.

3.1 Candidiasis Invasora

La infección invasora por *Candida* spp., puede presentarse como profunda localizada y diseminada. En los dos casos es secundaria a un episodio de candidemia

Definición de Candidiasis

Definida como una infección primaria o secundaria, causada por levaduras del género *Candida*, con gran variedad en sus manifestaciones clínicas, de evolución aguda, subaguda, crónica o episódica, y causante de lesiones cutáneas, muco cutáneas, profundas o diseminadas. Es pertinente, hacer énfasis en el entorno clínico que rodea al hospedero al momento de clasificar su situación sobre una CI.

La CI contempla dos situaciones distintas, la invasión confinada al torrente sanguíneo o candidemia y la invasión multiorgánica o candidiasis diseminada. La candidemia constituye la 3ª causa de ITS en la infección nosocomial y la 4ª de todas las infecciones (66)

Tabla 3. Criterios de EORTC y MSG para el diagnóstico de EFI probable y posible

FACTORES DEL HOSPEDERO
• Neutropenia < 500 neutrófilos/mm³ durante más de 10 días • Trasplante alogénico de progenitores hematopoyéticos • Corticoides a dosis $\geq$ a 0.3 mg/kg/día (equivalentes a prednisona) durante más de 3 semanas. • Inmunosupresores anti linfocitos T como ciclosporina, anti-TNF, alentuzumab o análogos nucleósidos durante los tres meses previos. Inmunodeficiencia grave congénita (IDSC, enfermedad granulomatosa crónica)
CRITERIOS CLÍNICOS
• Enfermedad fúngica del tracto respiratorio inferior: Presencia de 1 de los 3 signos en el TAC torácico: ○ Lesión densa bien definida con o sin signo del halo ○ Signo de la media luna (<i>air crescent sign</i>) ○ Cavitación • Traqueobronquitis: ○ Ulceración traqueobronquial, nódulos, pseudomembranas, placas o escaras vistas en la broncoscopia. ○ Infección sinonasal • Imagen de sinusitis más 1 de los 3 signos siguientes: ○ Dolor agudo localizado ○ Úlcera nasal con escara negruzca ○ Invasión ósea incluida la órbita • Infección del SNC: 1 de los 2 signos: ○ Lesiones focales en la radiología ○ Refuerzo meníngeo en la RMN o TAC • Candidiasis diseminada: 1 de los 2 hallazgos después de un episodio de candidemia en las dos semanas previas: ○ Pequeños abscesos (en ojo de buey) en hígado o bazo ○ Exudados retinianos
CRITERIOS MICOLÓGICOS
• Test directos (citología, examen microscópico directo, cultivos), Hongos filamentosos en esputo, LBA, cepillado bronquial, aspirado sinusal) • Test indirectos (detección de antígenos o constituyentes de la pared celular) Aspergilosis: galactomanano positivo en plasma, suero, LAB o LCR EFI (excepto criptococosis y zigomicosis) β glucano positivo en suero

*TNF: Factor de necrosis tumoral, IDSC: Inmunodeficiencia severa combinada, TAC: Tomografía axial computarizada, SNC: Sistema nervioso central, RMN: Resonancia magnética, LBA: Lavado bronco alveolar, LCR: Líquido cefalorraquídeo,

Adaptado de: Nadal y col. (66)

Definición de Candidemia

Básicamente se define como el hallazgo de *Candida* spp. en muestras de hemocultivos sin cambios inmunológicos en el hospedero, sin evidencia de compromiso de órgano sólido, exceptuado la localización cutáneo-mucosa.

Candidiasis profunda localizada

La infección invasora focal en la mayoría de los casos se produce por siembra hematógena, aunque no se descarta la posibilidad de que se instale por alteraciones de las barreras naturales que permitan su entrada o por la presencia de cuerpos extraños como sondas o prótesis.

- **Infección Urinaria:** En el paciente crítico es habitual el hallazgo del hongo en muestras rutinarias de orina, por lo que es menester hacer una diferenciación entre un episodio de colonización o infección de la vía urinaria y la afectación renal de la candidiasis diseminada.
- **Infección Intraabdominal:** Partiendo del hecho de que *Candida* spp. hace parte de la microbiota endógena del tracto digestivo, puede encontrarse como habitual en cualquier tipo de infección abdominal.
- **Endoftalmitis:** Ante el riesgo inminente de afectación, es rutinario realizar examen de fondo de ojo en pacientes críticos con factores de riesgo de CI.
- **Infección Tracto Respiratorio:** La mayoría de aislamientos de *Candida* spp. en muestras provenientes del tracto respiratorio obedecen a contaminación desde la orofaringe.
- **Meningitis:** El aislamiento de *Candida* spp. en líquido cefalorraquídeo es sinónimo de infección y no requiere ningún otro parámetro de evidencia para la instauración de TAF.
- **Infección Osteoarticular:** El hallazgo de *Candida* spp. en líquido articular es diagnóstico inmediato de infección y es mandatorio el tratamiento.

Candidiasis diseminada

Se refiere a múltiple localización visceral demostrable por histopatología, a partir de la siembra hematógena hay infección a diferentes órganos a distancia. Puede también presentarse con afectación de un solo órganos asociado con candidemia persistente.

- **Candidiasis Diseminada Aguda:** El síntoma característico es la persistencia de fiebre a pesar del tratamiento antibiótico.
- **Candidiasis Diseminada Crónica:** Casi exclusiva de pacientes neutropénicos, También se la ha denominado candidiasis hepatoesplénica, aunque también puede tener localizaciones en riñón y pulmón.
- **Aislamientos multifocales:** Es probablemente la forma más frecuente de presentación en el paciente crítico.

Criterios diagnósticos

Definitivamente el hecho que hace más difícil determinar si estamos frente a una infección por *Candida* spp., es que hace parte de la microbiota endógeno en diferentes sitios anatómicos, por lo que muchas veces su aislamiento es desestimado cuando proviene de muestras clínicas consideradas “no significativas” del tracto digestivo, piel y aparato genitourinario. En este escenario, la evidencia clínica implica distinguir entre colonización e infección con la demostración de la invasión tisular por el hongo, a diferencia del hallazgo de *Candida* spp., en muestras “significativas” como líquidos estériles (articular y cefalorraquídeo) y tejidos donde hace diagnóstico de infección *Per Se*.

3.2 Predicción Clínica de Candidiasis Invasora

La EFI en general está asociada a una alta mortalidad en el paciente crítico, y el pronóstico en la evolución depende en gran medida del diagnóstico y tratamiento

precoz. La CI es la más común de las EFI y es una entidad de difícil predicción diagnóstica debido a que sus signos y síntomas no se presentan patognomónicamente, su sintomatología no es orientativa e incluso indistinguible de una infección bacteriana. Sus manifestaciones clínicas son muy variadas; desde una presentación indolente que no evidencia signos clínicos, hasta un síndrome de sepsis que representa una respuesta sistémica a la infección. Los pacientes pueden presentar: taquicardia, taquipnea, hipotensión prolongada, hipotermia ($<36^{\circ}\text{C}$) o hipertermia ($>38.5^{\circ}\text{C}$) entre otros signos de infección.

Una alta sospecha basada en factores de riesgo y el diagnóstico temprano son determinantes para mejorar el pronóstico de la CI, para lo cual se han formulado diferentes reglas de predicción o *Score* basados en factores de riesgo, colonización, gravedad de la enfermedad, etc. y que, consideran tanto criterios clínicos como microbiológicos que permiten la identificación de pacientes con riesgo de CI que se beneficien de TAF anticipada.

Scores predictivos de Candidiasis Invasora

Todos los *Scores* predictivos publicados hasta el momento (*Candida Score*, regla de Ostrosky-zeichner, Playford, Nebraska *Score*, y Paphitou) tienen en común un alto valor predictivo negativo (95-97%) y valores predictivos positivos muy bajos que no llegan al 20% (67) (68)

La colonización por *Candida* se documenta casi en el 50% al 70% de los pacientes críticos no neutropénicos que permanecen más de una semana en UCI. No obstante, solo del 5% al 20% desarrollan candidiasis invasora, la mayoría de ellos tiene aislamientos multifocales que preceden a la infección invasora.

Índices de colonización

- **Índice de Pittet:** Descrito por Pittet y col. Se fundamenta en un sistema de puntuación basado en la presencia de colonización por *Candida*, fue descrito en los pacientes quirúrgicos y requiere la ejecución de cultivos cuantitativos. Consiste en la toma de cultivos para *Candida* de varios sitios (Orina, rectal, piel, etc.). Este índice es positivo cuando la mitad de los cultivos tomados son positivos para una misma especie de *Candida* (≥ 0.5). Tiene una sensibilidad del 100% y una especificidad del 69% (62) (69)
- **Índice de Colonización corregido de Pittet (ICC):** Piarroux y col. confirmaron la eficacia del TAF anticipado para prevenir la CI probada en paciente quirúrgicos críticos, utilizando el ICC. Este índice se determina tomando el número de muestras con alta colonización/número de muestras total analizadas. Cuantifica la intensidad de la colonización de mucosas por *Candida*. Los pacientes con un ICC ≥ 0.4 recibieron TAF anticipado con FCZ y la incidencia de candidiasis probada intra UCI disminuyó de forma significativa del 2.2% al 0%. Tiene una sensibilidad y especificidad del 100% (62) (69)

Reglas Ostrosky-Zcheiner

Este modelo estadístico demostró un riesgo particularmente elevado de CI en los pacientes tratados con antibióticos de amplio espectro (1 a 3 días), o portadores de catéter venoso central (1 a 3 días) y con al menos dos de los siguientes factores de riesgo: Nutrición parenteral total (1 a 3 días), cualquier tipo de diálisis (1 a 3 días), cirugía mayor (-7-0 días), ventilación mecánica ≥ 48 horas, corticoides (-7-3 días) u otros tratamientos inmunosupresores (-7-0 días). Este índice tiene una sensibilidad del 50% y una especificidad del 83% (62) (69) (70). No incluye criterios microbiológicos.

Regla Nebraska Medical Center

Esta regla considera la estancia en UCI por cuatro días o más, terapia antibiótica de amplio espectro, presencia de catéter venoso central, cirugía abdominal, tratamiento con corticoides, nutrición parenteral total (NPT), media de duración de estancia antes de ingreso en UCI. El punto de corte es de 2.45. Revela una sensibilidad de 84.1% y una especificidad de 60.2%.(62). Este índice no incluye criterios microbiológicos.

Score Candida

León y col. evaluaron el uso del *Score Candida*, un índice que incluye datos clínicos y colonización multifocal por *Candida* spp. Este sistema evalúa la situación de pacientes críticos en UCI y discrimina aquellos para los cuales la CI es altamente improbable, de aquellos con alto riesgo y decidir el inicio de terapia antifúngica empírica justificada. Este puntaje identifica tres variables a las que asigna un punto (nutrición parenteral total (NPT), cirugía abdominal, colonización por *Candida*) y una variable que tiene un valor de dos puntos (sepsis grave). El punto de corte es positivo para ≥ 3.0 , tiene una sensibilidad del 77.6% y una especificidad de 66.2% (62) (69) (70)

Regla Paphitou y col

Esta regla busca definir y aplicar criterios para diagnosticar formas medicamente relevantes de CI en UCI quirúrgica y se basa solo en datos rutinariamente disponibles en o antes del tercer día en UCI, no incluye criterios microbiológicos. Los factores de riesgo incluyen el uso de dispositivos médicos (Catéteres, ventilación mecánica, nutrición parenteral, hemodiálisis de nuevo inicio, cirugía y cirugía abdominal), trauma abdominal con perforación de órgano y uso de terapias coadyuvantes (corticoides, medicamentos inmunosupresores, antibióticos, agentes antifúngicos y agentes de la disminución de la acidez gástrica) (69) (71)

Modelo Dupont y col.

Este modelo de puntuación de factores de riesgo para CI se orienta hacia una subpoblación específica; pacientes en UCI con peritonitis secundaria severa, teniendo en cuenta que el aislamiento y la patogenicidad de levaduras recuperadas en líquido peritoneal siguen siendo controvertidos. Se identificaron cuatro factores riesgo independientes del aislamiento de levaduras en líquido peritoneal: 1. Sexo (femenino), 2. Origen de la peritonitis (tracto gastrointestinal superior), 3. Falla cardiovascular (intra-operatorio), 4. Terapia antimicrobiana previa (en al menos 48 horas). Esta puntuación se construyó de acuerdo al número de factores de riesgo, así: 1. Grado A: Cero o un factor de riesgo, 2. Grado B: Al menos dos factores de riesgo, 3. Grado C: al menos tres factores de riesgo, y 4. Grado D: Cuatro factores de riesgo (69) (72)

Modelo Michalopoulos y col.

Este modelo predictor fue diseñado de forma independiente para pacientes de UCI provenientes de cirugía cardiotorácica y contempla cuatro factores de riesgo para candidiasis invasora. La ventilación mecánica invasiva por 10 días o más, infección bacteriana o sepsis asociada a la hospitalización, *by-pass* coronario mayor de 100 minutos y diabetes mellitus (69)

Modelo Shorr y col.

En este modelo de *Score* incluye a todo tipo de pacientes ingresados a UCI, e identifica seis variables como los mejores discriminadores de riesgo para CI en pacientes críticamente enfermos; edad menor de 65 años, temperatura cuantificada menor o igual a 36.6 °C o alteración del estado mental, caquexia, previa hospitalización (menor de 30 días), traslado desde otra institución de salud y ventilación mecánica invasiva. Todos los criterios considerados son clínicos (69) (73)

3.3 Diagnostico de la CI

Por muchos años el método diagnóstico de referencia de la CI ha sido a través del cultivo micológico mediante el hallazgo de *Candida* spp., en muestras clínicas de sitio estéril y/o la evidencia histológica de la invasión tisular por elementos fúngicos. Sin embargo, su sensibilidad es muy baja y no permite hacer un diagnóstico temprano, por consiguiente, el riesgo de fracaso terapéutico debido al retraso en la instauración del tratamiento es sumamente alto. Teniendo en cuenta esta limitante se han desarrollado técnicas alternativas de diagnóstico precoz como la detección de biomarcadores que se anticipan al estado infeccioso permitiendo una terapia anticipada con éxito en la resolución de la entidad.

Según los criterios de EORTC/MSG (65). La CI probada se define como:

- La presencia histo/citoplasmática de levaduras y/o pseudohifas procedentes de punción-aspirado con aguja fina o biopsias de zona estéril (excluyendo mucosas)
- Cultivo positivo procedente de una muestra obtenida por procedimiento estéril de una localización habitualmente estéril donde existan datos clínicos o radiológicos compatibles (excepto orina, senos paranasales y mucosas)
- Hemocultivo positivo para *Candida* spp. en pacientes con signos y síntomas clínicos relacionados con el tiempo y compatibles con el hongo.

Diagnóstico convencional por cultivo

Sin lugar a dudas la ventaja de este método diagnóstico es que permite la identificación del hongo a nivel de especie y la posibilidad de realizar pruebas de susceptibilidad a antifúngicos. Si bien es cierto, el aislamiento de levaduras del género *Candida* es poco exigente en requerimientos nutricionales en medios de cultivo ya que se pueden obtener en medios usados rutinariamente en micología como agar sabouraud - dextrosa, la gran limitación que presenta este método es el tiempo de

espera para desarrollar el crecimiento. Las diferentes especies del género *Candida* pueden tardar en crecer desde 24 a 48 horas incluso hasta 72 horas para la expresión de estructuras morfológica importantes.

La identificación a nivel de especie se realiza mediante criterios morfológicos y pruebas fisiológicas y bioquímicas. Los ensayos más utilizados son las que se basan en la asimilación (auxonograma-degradación aerobia) y fermentación (zimograma-degradación anaerobia) de carbohidratos. (Ver Tabla 4)

Tabla 4. Métodos automatizados para la identificación de hongos levaduriformes

Método	Fundamento	Comentario
Panel Yeast ID®	• Paneles de identificación basados en pruebas bioquímicas convencionales, cromogénicas, fluorogénicas.	• Identificación de 64 especies de hongos levaduriformes y organismos afines. • Requiere establecer el medio de cultivo de donde procede el aislamiento fúngico, para definir características morfológicas secundarias. • El tiempo de identificación: 16 horas
Tarjetas YST Vitek 2®	• Tarjetas de análisis con 63 pocillos, para detección del metabolismo fúngico. • Su lectura se realiza mediante fluorescencia.	• Identificación de 51 especies levaduriformes y organismos afines, incluye <i>Candida dubliniensis</i>. • Requiere pruebas adicionales (fundamentalmente morfológicas), en los casos de identificaciones con baja discriminación. • Tiempo de identificación: 15 horas.
Panel RYI MicroScan®	• Placa de microdilución de 96 pocillos que utiliza 27 sustratos deshidratados. • La identificación se realiza mediante pruebas convencionales y cromogénicas.	• Identificación rápida de 40 especies de hongos levaduriformes y organismos afines. • Puede requerir pruebas adicionales (fundamentalmente morfológicas), en los casos de identificaciones con baja discriminación. • Tiempo de identificación: 4 horas.

Sistema YT MicroPlate®	• Paneles de identificación de 94 pruebas bioquímicas.	• Identifica hasta 267 especies diferentes pertenecientes a 53 géneros. • Tiempo de identificación: hasta 72 horas
-----------------------------------	--	---

*Información adaptada de los insertos del fabricante

Otra opción disponible para la identificación primaria de especies de levaduras del género *Candida* es el uso de agares cromogénicos, basados en métodos enzimáticos que desarrollan un color característico dependiendo de la actividad enzimática que presenta cada especie, ver Tabla 5.

Tabla 5. Características de las colonias de especies de *Candida* en medios cromogénicos

Microorganismo	Crecimiento	Color de la Colonia
<i>C. albicans</i>	Bueno	Verde
<i>C. parapsilosis</i>	Bueno	Rosa pálido
<i>C. tropicalis</i>	Bueno	Azul oscuro o azul grasáceo (con un halo rosa en el agar)
<i>C. glabrata</i>	Bueno	Rosa (de aspecto brillante)
<i>C. krusei</i>	Bueno	Rosa pálido a púrpura (de tono intenso y bordes más pálidos y de textura seca)

Diagnóstico basado en marcadores biológicos

Ante la elevada morbilidad, la CI se ha convertido en un problema importante en hospitales de tercer y cuarto nivel en todo el mundo. La mala evolución de la EFI se debe, en parte, a las dificultades para su diagnóstico microbiológico en sus primeros estadios. Los hemocultivos solo son eficaces en el 50% de las EFI por *Candida*. Por ello, el desarrollo, validación y uso de biomarcadores como herramientas de información para la evaluación del riesgo de EFI se ha incrementado y cada día toma mayor importancia teniendo en cuenta que, podrían influir en la instauración de una

TAF anticipada o no. Los marcadores biológicos pueden ser de utilidad en el seguimiento de la eficacia terapéutica.

¿Cómo se define un biomarcador?

El término “Biomarcador” se utiliza para medir una interacción entre un sistema biológico y un agente físico, químico o biológico, la cual es evaluada como una respuesta funcional o fisiológica y además está asociada con la probabilidad de desarrollar una enfermedad (74)

Los biomarcadores son parámetros biológicos que proveen información sobre el estado normal o patológico de un individuo. Tienen la característica de ser versátiles en su uso ya que pueden ser utilizados para mejorar el entendimiento de la enfermedad en diferentes aspectos como: la prevención, diagnóstico, progresión y respuesta farmacológica a una intervención terapéutica. El desarrollo de biomarcadores cada vez más específicos permite la elaboración de estrategias para mejorar las condiciones de vida de los pacientes y la comunidad, al generar información que permite realizar correctivos para disminuir la mortalidad y morbilidad de los individuos.

Es así que, se han desarrollado biomarcadores basados en métodos inmunológicos como la detección de antígenos y anticuerpos (Mn, Anti-Mn y Ac. Anti-micelio o Anti-tubo Germinal), en la detección de componentes fúngicos estructurales o metabólicos como el (1-3)- β -D-glucano (BG) y el D-arabinitol, y en la detección del ADN fúngico.

Biomarcadores basados en métodos inmunológicos

Detección de manano y anti-manano

El manano es un polisacárido de alto peso molecular de más de 260 kDa (75) formado por uniones de moléculas de manosa, presente en el 7% de la pared celular de *Candida* spp. y es uno de los principales antígenos circulantes durante la infección (76). Es el antígeno mayoritario e inmunodominante de la pared celular.

Estos polisacáridos de manosa se encuentran conjugados con proteínas formando manoproteínas que se sitúan en la parte más externa de la pared celular de las células de *Candida*. La existencia de estas manoproteínas como un componente mayoritario en la pared celular y la liberación de los polisacáridos de manano en suero u otros líquidos biológicos, brindan la posibilidad de ejecutar pruebas cuyo objetivo sea su detección con el fin de orientar al diagnóstico y seguimiento de las infecciones profundas por *Candida*.

Su capacidad inmunogénica es tan fuerte que los anticuerpos anti manano están presentes en prácticamente todas las personas y forman complejos con el manano cuando pasan a la sangre. La liberación del manano de los inmunocomplejos que forma con los anticuerpos es probablemente el paso más crítico de la prueba de detección y, junto con la transitoriedad de la mananemia, son la causa de la baja sensibilidad de la prueba que se describe entre el 40 y el 70% (77). Ante esta limitación de las pruebas por separado, se recomienda realizar de forma conjunta la prueba de detección de antígeno y anticuerpo en el paciente con riesgo de CI, estudios demuestran que la detección combinada de las pruebas es superior a la de cada una por separado, sensibilidad del 83% y especificidad del 86% (78)

Actualmente, la detección del antígeno manano y anticuerpo anti manano mediante una técnica de ELISA está disponible en PLATELIA™ *Candida* Ag Plus y PLATELIA™ *Candida* Ab Plus (Bio-Rad).

PLATELIA™ *Candida* Ag Plus es una técnica inmunoenzimática de tipo sándwich realizada en una etapa, sobre microplaca, que permite detectar el antígeno circulante manano de *Candida* en el suero o en el plasma humano. El anticuerpo monoclonal de rata EBCA-1, dirigido contra los α 1-5 oligomanosídicos de *Candida* se utilizan para sensibilizar los pocillos de la microplaca y unirse al antígeno manano que luego es revelado a través del anticuerpo monoclonal marcado con peroxidasa (79).

PLATELIA™ *Candida* Ab Plus es una técnica inmunoenzimática indirecta en dos etapas, sobre microplaca, que permite detectar los anticuerpos anti manano en el suero o plasma humano. Los pocillos de la microplaca son sensibilizados con manano purificado a partir de *C. albicans*, la reacción se revela con la adición de un conjugado (anticuerpo policlonal de cabra anti-IgG/IgA/IgM humano) marcado con peroxidasa.

Durante la tercera reunión de ECIL (*European Conference on Infections in Leukemia*) de septiembre de 2009 se analizó la realización de pruebas de diagnóstico no invasivas para infecciones fúngicas, entre ellas Mn y Anti-Mn. Este documento se centra en el uso de Mn y Anti-Mn en el diagnóstico de CI.

Detección de anticuerpos anti tubo-germinal

C. albicans es dimorfa y expresa crecimiento en gemación o en forma filamentosa (iniciadas por un tubo germinal o pseudohifa), ambos tipos de crecimiento se encuentran en el tejido infectado. Ensayos de adherencia in vitro entre *C. albicans* y células epiteliales bucales humanas han demostrado que el grado de adhesión a

células hospedadoras se correlaciona con la formación de tubos germinales (80). Los anticuerpos anti tubo germinativo van dirigidos a antígenos de *Candida* que se expresan mayoritariamente en la superficie de la pared celular de la fase micelial del hongo (hpw1) y que se asocia con la invasión tisular (77) (81)

El anticuerpo específico para el tubo germinativo de *C. albicans* CAGTA (Inmunoglobulina G [IgG], Vircell Microbiologist SL, Granada, España) es una prueba de inmunofluorescencia indirecta disponible comercialmente, que permite la detección de anticuerpos antimicelio contra varias *Candida* spp., revela una sensibilidad de 84.4%-96% y una especificidad del 94.7%-100% en muestras de pacientes con candidemia y/o candidiasis invasora. Igualmente es estudios sobre pacientes críticamente enfermos con riesgo de CI demostró una sensibilidad de 84%-87% y especificidad del 94.7-95% (82).

Detección de β -1,3-D glucano

El glucano es un componente de la pared celular fúngica formado por monómeros de glucosa, unido por enlaces β -1,3 y β -1,6. El β -1,3-glucano se libera durante la infección y puede detectarse en líquidos biológicos de pacientes con distintos tipos de micosis invasoras.(77). Su presencia en sangre y fluidos corporales normalmente estériles puede ser un marcador de infección fúngica invasiva (EFI) que incluye infección con los hongos patógenos más comunes *Aspergillus* y *Candida*. Aunque hay métodos comerciales actualmente disponibles para detección de BG: FungiTec G, Seikagaku Kogyo Corp, Tokio, Japón; prueba de β -D Glucano Wako, Wako Pure Chemical Industries, Tokio, Japón; BG Star, Maruha Corp, Tokio, Japón), hay poca experiencia en el uso de este marcador fuera de Japón. Recientemente se ha documentado una prueba que muestra gran potencial para el diagnóstico de EFI, es una prueba cromogénica para detección de BG (*Glucate*ll [*Fungitell*], Associates of

Cape Cod, Falmouth, Massachusetts, Estados Unidos) (83). Fungitell presenta una sensibilidad del 64.4% y una especificidad del 92,4% (77)

4. Antifúngicos

La mortalidad relacionada a la infección debida a CI sigue siendo alta, en particular en pacientes gravemente enfermos en la UCI y cuando la TAF se retrasa. La alta morbilidad y mortalidad relacionadas con las infecciones con la infección asociada con CI, combinadas con herramientas de diagnóstico subóptimas, han impulsado el uso excesivo de fármacos antifúngicos en el tratamiento y la profilaxis de la CI. De acuerdo a la declaración de la política de *Antimicrobial Stewardship of the Society for Healthcare Epidemiology of América* (SHEA), *The Infectious Diseases Society of América* (IDSA) y *Pediatric Infectious Diseases Society* (PIDS), la administración de antimicrobianos se define como un programa con intervenciones coordinadas para mejorar y medir el uso apropiado de agentes antimicrobianos. Al respecto, la *Antifungal Stewardship* (AFS) se refiere a un programa o serie de intervenciones para monitorizar y dirigir el uso de antifúngicos en una institución de salud. La optimización del uso de agentes fúngicos disponibles actualmente no solo está influenciada por las propiedades de los fármacos antifúngicos, sino también por su alto costo y toxicidades relacionadas con los fármacos. Sin embargo, la reducción en los costos de atención médica debe considerarse solo como un objetivo secundario de la AFS (84)

Estudios previos han demostrado que el uso inapropiado de medicamentos antifúngicos puede llegar al 67-74% en hospitales de tercer nivel de atención, la reducción del uso innecesario de antifúngicos debe ser uno de los principales objetivos de los programas AFS.

4.1 Clasificación general de los Antifúngicos

La clasificación tradicional de los antifúngicos se basa en dos principios fundamentales: Su sitio blanco y mecanismo de acción. (ver Tabla 4) (85)

Es importante que al momento de decidir sobre TAF más adecuada haya una adherencia tanto a las guías clínicas locales basadas en un estudio epidemiológico de influencia poblacional local como a las guías internacionales con gozan de basta evidencia científica.

4.2 Estrategias de Tratamiento Antifúngico

Tratamiento profiláctico

Determinados grupos de pacientes, entre ellos neoplasias hematológicas, trasplante de órgano sólido y algunos pacientes de cuidado crítico, son de muy alto riesgo de infección fúngica por lo cual el uso de TAF profiláctico aun sin presentar signos ni síntomas de infección está indicado con el fin de evitar el desarrollo de una EFI (86) (87)

Tratamiento anticipado

Es aquel que se inicia en forma precoz y dirigido en pacientes que presentan factores de riesgo para desarrollar una CI, con evidencia de un índice de predicción como el *Score Candida* positivo, colonización multifocal por *Candida* spp. o el resultado de biomarcadores (Ag Mn/Anti-Mn) hayan sido positivos (86) (87) (88) pero sin llegar a concluir una enfermedad clínica o definida.

Tabla 6. Clasificación de los antifúngicos según su sitio blanco

Diana	Clase	Mecanismo de acción	Antifúngico
-------	-------	---------------------	-------------

Membrana Celular	Azoles	Inhiben la 14 α - desmetilasa	Imidazoles: Ketoconazol Miconazol Triazoles: Fluconazol Isavuconazol, Itraconazol, Posaconazol, Voriconazol.
	Polienos	Unión al ergosterol, alterando la permeabilidad de la membrana	Anfotericina B
	Alilaminas	Inhiben la escualeno epoxidasa, por tanto, el ergosterol	Terbinafina
Pared Celular	Equinocandinas	Inhiben la síntesis de (1.3)- β -D-glucano	Anidulafungina Caspofungina Micafungina
Núcleo	Antimetabolito de pirimidina	Inhiben la síntesis de ácidos nucleicos.	5-Flucitosina
	Antitubulina	Bloquea la tubulina inhibiendo la división celular del hongo	Griseofulvina

Adaptado de: Lewis RE. Current Concepts in Antifungal Pharmacology. Mayo Clin Proc. 1 de agosto de 2011; 86(8):805-17

Tratamiento empírico

Es el tipo de tratamiento precoz que permite iniciar la administración del antifúngico ante la presencia de fiebre potencialmente relacionada con una EFI, dirigido a pacientes con factores de riesgo y características clínicas de una EFI, o pacientes con cultivos positivos para *Candida* spp. previo a la identificación de la especie o a la determinación de su sensibilidad frente a antifúngicos (86) (87) (89)

Tratamiento dirigido

Se aplica a pacientes con mayor evidencia de EFI, definida por los criterios de consenso del EORTC/MSG y en la que existan pruebas definitivas e indiscutibles del patógeno. El tratamiento dirigido es finalmente la terapia ajustada a la identificación del hongo y si es posible, a la información provista por test de sensibilidad ante el

fármaco. El mayor problema de este tipo de tratamiento es que se instaura de forma tardía con consecuencias pronósticas negativas (87)

Cuál es el tratamiento farmacológico antifúngico óptimo para CI/candidemia?

En todos los pacientes con una CI/candidemia documentada, la TAF debe iniciarse dentro de las 24 horas después de que un hemocultivo o cultivo de espécimen tomado de una localización estéril sea positivo para *Candida* spp. La versión más reciente de las pautas de ECIL recomienda el tratamiento inicial para la candidemia y otras enfermedades sistémicas por *Candida* spp. con equinocandinas (Anidulafungina, Caspofungina o Micafungina) para todos los pacientes y para todas las situaciones reservando azoles para la desescalada en pacientes estables con aislados que muestren susceptibilidad a los agentes, el FCZ no se considera como primera opción en pacientes críticos, y no debe usarse como terapia empírica en este grupo de pacientes además que, su uso puede verse restringido por una prevalencia cada vez mayor de infecciones causadas por especies de *Candida* con resistencia intrínseca o adquirida a FCZ (*C. glabrata* y *C. krusei*). Las guías recientes favorecen la clase de antifúngicos como las equinocandinas como terapia de primera línea en pacientes con inestabilidad hemodinámica, en aquellos con exposición previa a azoles y en sitios donde haya alta prevalencia de infecciones por cepas resistentes a FCZ. Los Polienos deben reservarse para infecciones de órganos terminales como meningitis, endocarditis u osteomielitis o para pacientes donde se documente o esté documentada una infección con otros patógenos fúngicos (68)

5. Justificación

Teniendo en cuenta el panorama actual de la infección nosocomial de la Fundación Hospital San Pedro, de acuerdo al comportamiento epidemiológico y la frecuencia y distribución de especies de *Candida* spp., es imperativo tener un conocimiento real sobre la situación de la candidemia/CI de nuestros pacientes, y los porcentajes de pacientes colonizados y cuál es la incidencia de esta colonización en el desarrollo posterior de una CI, ya sea candidémica y/o candidiasis profunda en el paciente de alto riesgo en condición crítica, condiciones que se reflejan es el aumento del aislamiento de especies de *Candida* no-*albicans*, junto con el dramático aumento del uso de antifúngicos como profilaxis o tratamiento temprano.

Debido al tiempo de estancia hospitalaria promedio de los pacientes ingresados en la UCI, se hace necesario establecer cuáles son los factores condicionantes que permiten la manifestación de una multicolonización candidiásica que junto a factores de riesgo asociados como: ventilación mecánica, uso de dispositivos médicos como sondas o catéteres, exposición a antibióticos de amplio espectro, terapia profiláctica con azoles, cirugías extensas o patologías complicadas podrían ser determinantes para el desarrollo de una candidemia/CI, y el impacto de uso de índices de predicción como ScC, para estratificar los pacientes que se beneficiarían de una TAF temprana.

No existe una base documentada sobre la prevalencia de la colonización por *Candida* spp. en pacientes que ingresan a la UCI de la Fundación Hospital San Pedro, así como tampoco se cuenta con estudios sobre los factores de riesgo asociados en esta población de pacientes, que puedan orientar sobre el alto riesgo de desarrollar una candidemia/CI y ventaja de la consideración de TAF temprana, ante la falta de documentación micológica probada. Tampoco se cuenta con datos que establecen el valor real de uso de pruebas no convencionales de diagnóstico, como el uso de

biomarcadores serológicos, para primero establecer una aproximación diagnóstica precoz de la EFI, y segundo permita hacer un seguimiento de TAF y determinar el pronóstico de la CI en nuestro entorno hospitalario específico.

6. Problema

La CI carece de signos patognomónicos de infección, y su presentación clínica es inespecífica en cuanto a sus signos y síntomas e indistinguible de una infección bacteriana. Estudios observacionales prospectivos han sugerido que una TAF temprana basada sobre los síntomas clínicos, resultados de los cultivos de sitios anatómicos no estériles o el resultado de biomarcadores se asocia con una disminución de la mortalidad entre pacientes con alto riesgo de una CI, donde el empleo temprano de TAF y el control de la fuente de infección son los principales determinantes de supervivencia.

La alta mortalidad de la CI se asocia a la dificultad que supone realizar un diagnóstico precoz, por lo tanto, para mejorar el pronóstico de estos enfermos sería aconsejable considerar el uso de herramientas de aproximación diagnóstica como el uso de la detección de antígeno y anticuerpo (Mn y Anti-Mn) específicos de *Candida*, que usadas en combinación con índices de predicción como el ScC podrían ser determinantes en la decisión de una TAF precoz.

7. Hipótesis

El uso de biomarcadores serológicos y cultivos micológicos de sitios anatómicos no estériles, son una estrategia diagnóstica para una candidemia/CI en pacientes en condición crítica en la UCI, que permitiría la instauración de una TAF temprana.

8. Objetivos

Objetivo General.

Validar el uso de los modelos predictivos de la CI en pacientes hospitalizados en la UCI de la Fundación Hospital San Pedro-Pasto, como una herramienta para diagnóstico anticipado, mediante la evaluación de índices de predicción clínica, mediante cultivos micológicos utilizando “*Score Candida*” y biomarcadores Antígeno Manano (Mn) y Anticuerpos Anti Manano (Anti-Mn).

Objetivos Específicos.

1. Establecer el perfil epidemiológico de las EFI, por especies de *Candida*, mediante la búsqueda activa de colonización multifocal.
2. Determinar el índice “*Score Candida*” (ScC), como un apoyo real para el diagnóstico de una CI, en el paciente de alto riesgo hospitalizado en la UCI.
3. Cuantificar los niveles séricos de Mn y Anti-Mn y su relación con la multi-colonización candidiásica y el desarrollo posterior de una CI, en pacientes de alto riesgos hospitalizados en la UCI.
4. Evaluar el rendimiento diagnóstico de los niveles séricos del Mn y Anti-Mn como herramienta predictora de una CI en base a los criterios EORTC.
5. Correlacionar los niveles séricos de Mn y Anti-Mn en relación a TAF instaurada.

9. Materiales y Métodos

Metodología

El presente estudio tuvo la aprobación el comité de Ética de Investigación de La Fundación Hospital San Pedro y todos los pacientes y/o sus familiares cercanos ingresados en el estudio dieron su consentimiento libre e informado, documentado por escrito (Anexo B).

Población

La Fundación Hospital San Pedro es una institución de salud de tercer nivel de atención con servicios de mediana y alta complejidad, con 184 camas en hospitalización que atiende a una población promedio de 2386 pacientes por mes. La UCI cuenta con 16 camas habilitadas que reciben en promedio 92 pacientes por mes.

El presente estudio incluyó a 64 pacientes ingresados a la UCI con alto riesgo de desarrollo de CI, que cumplieran con los criterios de inclusión y exclusión, en el periodo comprendido entre junio de 2017 y abril de 2018. Es importante mencionar que el número de pacientes incluidos obedece a la disponibilidad del reactivo y al carácter donativo de este por parte de la casa distribuidora del mismo en el país ya que no se cuenta con respaldo económico para la ejecución de esta investigación.

Los criterios de inclusión fueron los siguientes: pacientes adultos, con estancia en UCI mayor o igual a 5 días y con sospecha de CI. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: IC conocida y comprobada en la inclusión.

Especímenes Clínicos

Se obtuvieron especímenes clínicos de los pacientes con permanencia igual o mayor a 5 días, y en ellos se inició la búsqueda de colonización multifocal por *Candida*, mediante el cultivo de muestras de orina, hisopado rectal, hisopado cavidad oral, hisopado vaginal (en población femenina), hisopado de inglés (en población masculina) e hisopado de axilas, eventualmente se tomaron muestra diferente a orina en casos específicos de pacientes anúricos en los cuales no fue posible obtener muestra. Simultáneamente se tomaron muestras de sangre comenzando el día 1 de la toma de los cultivos micológicos y continuando con la toma cada tercer día hasta el egreso del paciente, o hasta el día 14 de TAF.

Las muestras de sangre se tomaron en dos tubos sin anticoagulante, se centrifugaron a 2500 RPM por 10 minutos, se separaron bajo campana de flujo laminar en alícuotas y se almacenaron a -20°C, ninguna muestra pasó por más de un ciclo de congelación-descongelación hasta la fecha de análisis.

Como protocolo de UCI, se tomaron hemocultivos seriados (3 muestras) para descartar una EFI probada, los hemocultivos se procesaron utilizando el sistema automatizado BD BACTEC™ FX Blood Culture System (*Becton, Dickinson and Company*).

Variables

Se tuvo en cuenta los días de ingreso del paciente en UCI (mínimo 5 días), considerando los factores condicionantes y las poblaciones de riesgo para desarrollar una CI (Tabla 2). Las variables demográficas como edad, sexo, fecha de ingreso a UCI se extrajeron del sistema general de información SIOS SALUD de la Fundación Hospital San Pedro y se diligenciaron en el formato Hoja de Recolección de Datos (Anexo A)

Las variables correspondientes al comportamiento clínico del paciente al momento de la admisión en UCI, se clasificaron en: patología crónica, patología infecciosa y patología oncológica.

Las variables de antecedentes farmacológicos como el uso de antibióticos y antifúngicos se consideraron en un periodo de hasta los seis meses previos, a la admisión en la UCI, junto con la administración actual del antifúngico, tiempo de administración y dosis.

Pruebas diagnósticas

Cultivos micológicos

Se realizaron cultivos micológicos en los siguientes medios de cultivo: Sabouraud Gentamicin Chloranphenicol 2 agar (*bioMérieux*), Columbia CNA Agar with 5% sheep blood (*Becton, Dickinson and Company*) y CHROMID[®] Candida (*bioMérieux*)

A todos los aislados clínicos se les realizó un examen directo, para verificar la morfología fúngica. La identificación final a nivel de género y especie se realizaron por método automatizado BD Phoenix[™] Automated Microbiology Sistem (*Becton, Dickinson Diagnostic*) con el panel de identificación BD Phoenix[™] YEAST ID (*Becton, Dickinson Diagnostic*), además del análisis de características fenotípicas en CHROMID[®] Candida (*bioMérieux*) y la prueba de formación de tubo germinal.

Detección de Manano y Anti-manano

Las pruebas serológica Mn/Anti-Mn se remitieron siguiendo las estrictas normas de garantía de transporte de especímenes biológicos a la Facultad de Medicina,

Departamento de Microbiología de la Universidad Nacional de Colombia donde se procesarán las muestras en cuestión.

La detección de Mn y Anti-Mn se realizaron mediante la técnica comercial ELISA disponible *Platelia™ Candida Ag Plus* y *Platelia™ Candida Ab Plus* (Bio-Rad) siguiendo las recomendaciones del fabricante, el procedimiento de determinación se describe en los anexos C y D.

Los puntos de corte según recomendaciones de la casa comercial fueron los siguientes: Manano positivo ≥ 125 pg/mL, indeterminado $< 125 - 62.5$ pg/mL, negativo ≤ 62.5 pg/mL; Anti manano positivo ≥ 10 AU/mL, indeterminado $< 10 - 5$ AU/mL, y negativo < 5 AU/mL.

Análisis Estadístico

Estudio observacional prospectivo y análisis de concordancia Kappa. Se realizó el análisis estadístico para el componente descriptivo, donde se utilizaron medias y desviaciones estándar (DS) para las variables continuas y porcentajes para las variables categóricas. Se evaluó la asociación entre categorías de las variables utilizando la prueba exacta de Fisher.

Se evaluaron las características operativas de las pruebas diagnósticas calculando el valor de sensibilidad (S), especificidad (E), valores predictivo negativo (VPN) y positivo (VPP) y para dichos estimados se calcularon los intervalos de confianza (IC 95%). Como pruebas diagnósticas se marcaron de manera aislada como en combinación.

Para el análisis estadístico se empleó el paquete STATA realase.15

Definiciones

Paciente Crítico: Se define por la existencia de una alteración en la función de uno o varios órganos o sistemas, situación que puede comprometer su supervivencia en algún momento de su evolución, por lo que la muerte es una alternativa posible.

Candidiasis invasora: Se define como el aislamiento de alguna especie de *Candida*, en hemocultivos (candidemia) y/o en algún otro sitio estéril infectado por este patógeno (64)

Candidiasis posible (CI posible): Según los criterios de EORTIC se define CI posible cuando existen factores de riesgo del hospedero y evidencia clínica de EFI sin criterios micológicos positivos. Para nuestro estudio, definiremos como CI posible la existencia de factores de riesgo del hospedero más la evidencia micológica positiva, es decir, cuando el ScC es positivo (≥ 3.0 puntos)

Candidiasis probable (CI probable): Se define como la sepsis severa sin respuesta al tratamiento antibiótico y colonización multifocal por *Candida* spp. (*Candida* spp. aislada de al menos 2 localizaciones no estériles (± 3 días)) y/o ITU sintomático por *Candida* spp., sin otro diagnóstico microbiológico y/o esofagitis visualizada por endoscopia o por biopsia. Para nuestro estudio, CI probable además está definida por la positividad de los biomarcadores Mn o Anti-Mn, cuando al menos uno, o ambos están positivos según puntos de corte del fabricante.

Candidiasis probada (CI probada): Se define como el hallazgo de hemocultivos positivos para *Candida* spp., (candidemia) o positividad en los exámenes histopatológicos, citopatológicos o microscópicos de muestras clínicas normalmente estériles obtenidas mediante biopsia o aspiración con aguja y/o la recuperación de *Candida* spp. por cultivo microbiológico de muestras obtenidas por procedimientos

estériles de lugares normalmente estériles mostrando además clínica de anomalías radiológicas consistentes en un proceso de enfermedad infecciosa (90)

Neutropenia: Se define como un recuento absoluto de neutrófilos de menos de $0.5 \times 10^9/L$, o una disminución de $1.000 \times 10^9/L$ a $0.5 \times 10^9/L$ en 48 horas (91)

Fiebre: Temperatura oral única $\geq 38,3^\circ C$ ($101^\circ F$) o temperatura oral $\geq 38,0^\circ C$ ($104.4^\circ F$) durante un periodo sostenido de una hora (90)

Patología crónica: Se define como un trastorno orgánico funcional que obliga a una modificación de los estilos de vida de una persona y que tiende a persistir a lo largo de la vida de esta. Frente a la etiología son varios e influyen factores como ambiente, estilo de vida y hábitos, herencia, niveles de estrés, calidad de vida entre otros. Hay muchos tipos de enfermedades crónicas, desde la hipertensión arterial (HTA), diabetes mellitus (DM), enfermedad renal crónica (ERC), lupus eritematoso sistémico (LES) (90)

Patología infecciosa: Se define como aquel proceso que ocurre concomitante con la evidencia de un agente infeccioso como: bacteriemia (BAC), virus de inmunodeficiencia humana (VIH) entre otros.

Patología oncológica: Se define como una neoplasia maligna que tiene su origen en la proliferación acelerada, desordenada e incontrolada que se originan en estirpes celulares de origen epitelial o glandular, y no a las que son generadas por células de estirpe mesenquimal (sarcomas).

SIRS: Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica. Se define como un proceso inflamatorio no específico, generalizado e independiente del factor causal. Es la

respuesta sistémica a diferentes estímulos, manifestada por dos o más de los siguientes criterios., (ver Tabla 7)

Manano (Mn): Antígeno de la pared celular de *Candida* spp.

Anti-manano (Anti-Mn); Anticuerpo dirigidos contra el antígeno manano

Mananemia: Circulación en sangre del antígeno manano de *Candida*.

Tabla 7. Criterios diagnósticos de síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS)

Criterio	Valores
• Frecuencia cardíaca • Frecuencia respiratoria	Más de 90 latidos por minuto Más de 20 respiraciones por minuto o bien menos de 32 mmHg de CO₂ en una gasometría arterial 20/min. O PaCO₂ menor de 32 mmHg.
• Temperatura • Leucocitos	Más de 38 °C o menos de 36 °C Leucocitos de más de 12.000/mm³ o leucopenia menor de 4000/mm³ o bien más de 10% de bandas.

SIRS: Síndrome de respuesta inmune sistémica

Adaptado de Mota JD. Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, Aspectos fisiopatológicos. Rev. Med Crítica y Terapia Intensiva 2009, XXIII (4), 225-233

10. Resultados

Variables Demográficas: Durante el periodo de estudio ingresaron a la UCI un total de 1028 pacientes, de los cuales se identificó 64 pacientes objeto de estudio, que cumplían con los criterios de alto riesgo para desarrollar una CI, (ver Tabla 6). La media de edad fue de 58.3 años (Min.14 - Max. 91), con respecto al sexo no hubo una diferencia significativa asociada al sexo del paciente. Con un tiempo promedio de estancia hospitalaria de 16.51 (DS 11.56) días.

Tabla 8. Características demográficas de los pacientes ingresados a UCI con factores de riesgo para CI

Característica	N=64	%	DS
Edad (Media en años)	58.3		22.3
Sexo Hombre	33	51.5	
Estancia hospitalaria en días (Mediana)	11.5		16.5

DS: Desviación estándar, UCI: Unida de cuidado intensivo, CI: Candidiasis invasora

Co-morbilidades y factores de riesgo: Se determinó una patología se origen infeccioso evidenciada en 34.3% de los pacientes, seguida de las crónicas con 26.5%. Cabe destacar que el 95.3 % de los pacientes tenían un diagnóstico de SIRS y un 17.1% de los pacientes, tenía durante su estancia en UCI un diagnóstico de una neutropenia febril. Dentro de los antecedentes terapéuticos se encontró que el total de los pacientes tenía antecedentes de tratamiento antibiótico de amplio espectro antes de su ingreso en la UCI y el 33% de ellos habían estado expuestos a TAF, (ver tabla.)

Tabla 9. Co-morbilidades y factores de riesgo para candidiasis invasora

Co-morbilidades	n	%
Edad: Mayor a 65 años	28	43.7
Patología crónica (HTA, DM, LES)	17	26.5
Patología infecciosa (Sepsis)	22	34.3
Patología oncológica	12	18.7
Otras (IAM, SDRA, ECV)	13	20.3
Insuficiencia renal y/o hemodiálisis	7	10.9
Pancreatitis, perforación visceral, etc.	8	12.5
Politraumatismo	9	14.0
Quimioterapia, corticoides e inmunosupresores	12	18.7
Neutropenia	11	17.1
Neutropenia febril	11	17.1
Estancia en UCI > 5 días	64	100
CVC	64	100
NPT	14	21.8
CX ABD	19	29.6
AB amplio espectro	64	100
SIRS	61	95.3
Antecedente de TAF previo 6 meses	48	75.0
TAF al día 0 de ingreso a UCI	33	51.5

HTA: Hipertensión arterial, DM: Diabetes mellitus, LES: Lupus eritematoso sistémico. IAM: Infarto agudo de miocardio, SDRA: Síndrome de dificultad respiratoria del adulto, ECV: Enfermedad cerebro vascular, CVC: Catéter venoso central, NPT: Nutrición parenteral central, CX ABD: Cirugía abdominal, AB: Antibiótico, SIRS: Síndrome de respuesta inflamatoria sistémica, TAF: Tratamiento antifúngico

Colonización y distribución de especies: Se tomaron un total de 5 cultivos micológicos por cada paciente, de las localizaciones anatómicas establecidas, con un total de 320 cultivos. De estos cultivos de rastreo se obtuvieron 171 aislamientos de especies de *Candida*. El 70.3% de la población del estudio presentó cultivos positivos para especies de *Candida*. Se evidenció que, entre los sitios muestreados para la búsqueda de esta colonización multifocal por *Candida*, el que presentó mayor porcentaje de positividad fue el hisopado de cavidad oral con el 31.5%, las muestras de orina resultaron positivas en un 5.2 % con 9 pacientes colonizados, (ver Tabla 10)

Tabla 10. Colonización multifocal, Índice de Pittet e Índice de Biotipificación (índice de colonización corregido)

Multicolonización		Índice de Pittet		Índice de Biotipificación	
≥ 2 sitios n (%)	≥ 3 sitios n (%)	< 0.5 n (%)	≥ 0.5 n (%)	< 0.4 n (%)	≥ 0.4 n (%)
51 (79.6)	45 (70.3)	19 (29.6%)	45 (70.3%)	25 (39.0)	39 (60.9%)

En cuanto a la distribución de especies, del total de aislamientos levaduriformes, la mayor en frecuencia fue *C. albicans* un 59% de los aislamientos, seguido de *C. glabrata* con 21.6%, otras especies encontradas como colonizantes dentro de la población de estudio fueron: *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. dubliniensis*, *C. inconspicua* y *C. melibiosica*. La tabla 9 muestra la frecuencia por especies de *Candida* y sitio anatómico de aislamiento se resumen en la tabla 11. En 23 casos se documentó una infección mixta, y en 5 casos correspondió a infecciones asociadas a *C. albicans* y *C. glabrata*.

Tabla 11. Frecuencia de las especies de *Candida* y asociación por sitio anatómico de aislamiento

Especie	f	%	HCO n (%)	HR n (%)	HA n (%)	HI n (%)	HV n (%)	ORI n (%)
<i>C. albicans</i>	101	59	36(66.6)	26(60.5)	9(52.9)	15(57.7)	11(50)	4(44.4)
<i>C. glabrata</i>	37	21.6	9(16.6)	10(23.2)	2(11.8)	7(26.9)	7(31.8)	2(22.2)
<i>C. parapsilosis</i>	6	3.5	1(1.8)	0	5(29.4)	0	0	0
<i>C. tropicalis</i>	17	9.9	5(9.2)	4(9.3)	0	3(11.5)	3(13.6)	2(22.2)
<i>C. krusei</i>	6	3.5	2(3.7)	1(2.3)	1(5.9)	1(3.8)	1(4.5)	0
<i>C. melibiosica</i>	2	1.1	0	1(2.3)	0	0	0	1(11.1)
<i>C. dubliniensis</i>	1	0.5	0	1(2.3)	0	0	0	0
<i>C. inconspicua</i>	1	0.5	1(1.8)	0	0	0	0	0
Total	171	100	54(31.5)	43(25.1)	17(9.9)	26(15.2)	22(12.8)	9(5.2)

f: Frecuencia, HCO: Hisopado cavidad oral, HR: Hisopado rectal, HA: Hisopado axilar, HV: Hisopado vaginal, ORI: Orina

Score *Candida*: De los 64 pacientes identificados de alto riesgo de CI, el 26.5% (17 pacientes) tuvieron un ScC positivo, con un valor de 4.0 puntos fueron 13 (20.3%) y

con un valor de 5.0 puntos fueron 4 (6.25%). Un porcentaje importante de pacientes, tuvieron un valor de 3.0 puntos en el ScC, que corresponden a 16 casos (25%) con categoría de inconcluso, que no descarta la colonización multifocal.

Dentro del grupo de pacientes clasificados como CI Posible de igual forma se obtuvo un resultado inconcluso en el 77.7% (14 casos). El grupo de CI posible reveló una diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.000$). (Ver Tabla 12)

Tabla 12. Análisis de CI posible y CI probada frente a resultados de ScC

	Global n=64	ScCI n=16 (%)	ScCP n=17 (%)	<i>p</i>
CI Posible		16 (25)	15 (23.4)	0.000
CI Probada		0	2 (3.1)	0.060

ScCI: *Score Candida* inconcluso, ScCP: *Score Candida* positivo, CI: Candidiasis invasora

En el análisis se muestran también datos estadísticamente significativos entre los resultados del ScC frente a TAF ($p = 0.010$). De la misma manera, al comparar la mortalidad mostrada entre los pacientes con ScC Positivo, inconcluso y negativo se observaron diferencias estadísticamente importantes ($p = 0.030$). (Ver Tabla 13)

Tabla 13. Análisis de TAF precoz y mortalidad cruda frente a los resultados del ScC

	Global n=64 (%)	ScCN n=31 (%)	ScCI n=16(%)	ScCP n=17(%)	<i>p</i>
TAF	33 (51.5)	10 (30.3)	11 (33.3)	12 (36.3)	0.010
Mortalidad cruda	23 (35.9)	7 (30.4)	6 (26)	10 (43.4)	0.030

ScC: *Score Candida*, ScCN: *Score Candida* negativo, ScCI: *Score Candida* inconcluso, ScCP: *Score Candida* positivo, TAF: *Terapia antifúngica*

Mortalidad: La mortalidad cruda fue del 35.9% (n=23 pacientes) sin evidencia microbiológica *post mortem* de una CI, y solo en 2 paciente, se confirmó una CI, asociada a la positividad de los hemocultivos, durante su ingreso en la UCI, sin evidencia presumible del foco infeccioso aparte del hematógeno, aunque posiblemente asociado al antecedente de cirugía abdominal; el primer paciente presentaba patología oncológica con sepsis abdominal, choque séptico y peritonitis con evidencia de aislamientos bacterianos en líquido peritoneal y sin aislamientos micológicos documentados, excepto en hemocultivo (positivo para *C.albicans*) y el segundo paciente presento falla renal, choque séptico y peritonitis, no se encontró evidencia microbiológica documentada excepto el hemocultivo positivo para *C. albicans*. Solo en 3 pacientes (4.6%) se documentó una causa de muerte infecciosa con evidencia microbiológica.

Se estableció en 48,4% una CI posible, en 14% una CI probable y en 3.1% una CI probada, con una relación significativa entre la muerte de paciente y el diagnostico de una CI Posible ($p = 0.041$), (ver tabla 13). El 34.3% de los pacientes, fueron negativos en colonización multifocal y/o biomarcadores serológicos, sin embargo, la mortalidad cruda fue de 9.0%.

Tabla 14. Análisis de mortalidad en CI Posible, CI Probable y CI Probada

	Global n=64 (%)	Fallece n=23 (%)	No fallece n=41 (%)	<i>p</i>
CI Posible	18 (28.1)	10 (43.4)	8 (19.5)	0.041
CI Probable	9 (14.0)	2 (8.7)	7 (17.0)	0.299
CI Probada	2 (3.1)	2 (8.6)	0	0.125

CI: Candidiasis invasora

Terapia antifúngica (TAF): El 75% de los pacientes tenían antecedentes de TAF seis meses anteriores a su hospitalización en UCI y en 33 pacientes (51.5%) pacientes se le inició un TAF al inicio del periodo de riesgo, con un promedio de 6.4 días (DS 2.5)

de TAF con FCZ y de 8.1 días (DS 2.7) de TAF con CA, y algunos pacientes con manejo con ANI. (Ver tabla 15)

Tabla 15. Descripción de TAF en los pacientes de UCI

Antifúngico	Número de pacientes	Frecuencia %	Dosis y duración de tratamiento	Promedio días de TAF (DS)
Fluconazol	14	21.88	Dosis de carga 800 mg/día seguido 400 mg/día, por 7-14 días.	6.4 (2.5)
Caspofungina	14	21.88	Dosis de carga 70 mg el primer día, seguido de 50 mg/día. Hasta que los signos y síntomas de CI hayan desaparecido y en general por 14 días más del último hemocultivo positivo	8.1 (2.7)
Anidulafungina	10	15.63	Dosis de carga 200 mg el primer día, seguido de 100 mg/día. Hasta que los signos y síntomas de CI hayan desaparecido y en general por 14 días más del último hemocultivo positivo	8.9 (4.9)

En 5 pacientes (7.8%) se hizo cambio de TAF luego de la identificación de especie, de FCZ a CA en 3 pacientes y en 2 de FCZ a ANI. La mortalidad cruda de los pacientes con TAF fue de 39.3%, aunque no hubo una relación significativa ($p= 0.370$), (ver Tabla 16)

Tabla 16. Análisis de mortalidad en UCI de pacientes con TAF

	No Fallece n (%)	Fallece n (%)	p
Sin TAF	21 (67.9)	10 8 (32.2)	0.609
Con TAF	20 (60.6)	12 (39.3)	0.370

UCI; Unidad de cuidados intensivos, TAF; Tratamiento antifúngico

Biomarcadores (Mn y Anti-Mn): La determinación serológica de los biomarcadores Mn/Anti-Mn se realizó en 178 muestras séricas seriadas, en 21 (32.8%) pacientes, se procesaron 3 muestras. La positividad del Mn o Anti-Mn, se determinó cuando al menos una muestra fuera positiva, (ver Tabla 17)

Tabla 17. Biomarcadores Mn/Anti-Mn en determinaciones seriadas

Resultado	Mn			Anti-Mn			Mn/Anti-Mn		
	Día 0 n (%)	Día 3 n (%)	Día 6 n (%)	Día 0 n (%)	Día 3 n (%)	Día 6 n (%)	Día 0 n (%)	Día 3 n (%)	Día 6 n (%)
Positivo	2 (3.1)	8 (15.6)	5 (14.2)	29 (45.3)	23 (45.0)	11 (31.4)	31 (48.4)	26 (50.9)	18 (51.4)
Indeterminado	0	0	2 (5.7)	14 (21.8)	9 (17.6)	7 (20.0)	14 (21.8)	8 (15.6)	7 (20.0)
Negativo	62 (96.8)	43 (84.3)	28 (80.0)	21 (32.8)	19 (37.2)	17 (48.5)	19 (29.6)	17 (33.3)	10 (28.5)
Total	64	51	35	64	31	35	64	31	35

Mn: Manano, Anti-Mn: Anti manano. Se tomó un n= 178 muestras, de las cuales 150 corresponden a determinaciones hasta el día 6 y 28 que corresponden a pacientes en los cuales se hizo determinaciones mayores posteriores (Día 9, Día 12, y mayor a Día 12).

En 62 (96.8%) pacientes, el Mn al día 0 (Día 5 de hospitalización en UCI) fue negativo, y en 43 (67.1%) pacientes, el Anti-Mn fue positivo o indeterminado al día 0, que tiene relación con la colonización del paciente durante su hospitalización. Los resultados serológicos reflejaron un comportamiento lineal progresivo del día 0 al día 6, en los casos positivos de Mn, pasando de un 3.1% el día 0, a un 15.6 y 14.2% en los días 3 y 6 respectivamente. De igual manera, con los resultados de Anti-Mn se refleja la disminución en la positividad de un 45.3% el día 0 a un 31.4% el día 6, asociado al TAF temprano. Los resultados del Mn/Anti-Mn en combinación, reflejaron la estimación de casos positivos desde el día 0 con un 48.4% y sin mayor variabilidad al día 6 con el 51.4%, que se explica como el mejor rendimiento de la prueba.

En la tabla 18 se muestra el rendimiento diagnóstico de las pruebas de Mn, Anti-Mn, solas y en combinación en CI posible. Para una prevalencia de 28% (IC95% 18 - 40.8), la sensibilidad del Mn estuvo en 11.1%, (IC 95% 1,38-34.7), para Anti-Mn la sensibilidad fue de 77.8% (IC 95% 52.4-93.6), la especificidad para Mn 86.2%, y para Anti-Mn 23.9%, VPP 20% y 28.6 respectivamente y VPN de Mn 70.4 % y Anti-Mn 73.3%. Al analizar estos datos, la sensibilidad mejora si se usan en combinación Mn y Anti-Mn por otro lado, la especificidad mostró una caída significativa. El VPN tanto de Mn como de Anti-Mn tuvo un desempeño importante.

En la tabla 19 se muestra el rendimiento diagnóstico de las pruebas de Mn, Anti-Mn, solas y en combinación en CI probable. Para una prevalencia del 14%, la sensibilidad tanto de Mn como de Anti-Mn estuvo en 100%, mientras que la especificidad de Mn es bastante alta 98.2%, la de Anti-Mn estuvo en 27.3%. Con respecto a VPP, Mn indicó un 90% mientras que el rendimiento de Anti-Mn es bajo 18.4%, el VPN tanto de Mn como Anti-Mn estuvo en 100% consolidando la prueba como un marcador importante para descartar la enfermedad.

Tabla 18. Biomarcadores Mn/Anti-Mn en CI Posible

	BM		n=64 (%)	LR+*	LR*	S* (%)	E* (%)	VPP* (%)	VPN* (%)
				(95% IC)	(95% IC)	(95% IC)	(95% IC)	(95% IC)	(95% IC)
CI Posible	Mn	Positivo	10 (15.6)	0.639	1.08	11.1	82.6	20	70.4
		Negativo	54 (84.4)	(0.15-2.73)	(0.872-1.03)	(1.38-34.7)	(68.6-92.2)	(2.52-55.6)	(56.4-82)
	Anti-Mn	Positivo	49 (76.6)	1.02	0.929	77.8	23.9	28.6	73.3
		Negativo	15 (23.4)	(0.761-1.37)	(0.34-2.54)	(52.4-93.6)	(12.6-38.8)	(16.6-43.3)	(44.9-92.2)
	Mn/Anti-Mn	Positivo	50 (78.1)	0.994	1.082	77.8	21.7	28	71.4
		Negativo	14 (21.9)	(0.744-1.13)	(0.367-2.84)	(52.4-93.6)	(10.9-36.4)	(16.2-42.5)	(41.9-91.6)

* Prevalencia de 28%. Mn: Manano, Anti-Mn: Anti-manano, CI: Candidiasis invasora, BM: Biomarcador, IC Intervalo de confianza, LRP: Like ratio positivo, LRN: Like ratio negativo, S: Sensibilidad, E: Especificidad, VPP: Valor predictivo positivo, VPN: Valor predictivo negativo

Tabla 19. Biomarcadores Mn/Anti-Mn en CI Probable

	BM		n=64 (%)	LR+*	LR-*	S* (%)	E* (%)	VPP* (%)	VPN* (%)
				(95% IC)	(95% IC)	(95% IC)	(95% IC)	(95% IC)	(95% IC)
CI Probable	Mn	Positivo	10 (15.6)	55 (7.89-384)	0	100 (66.4-100)	98.2 (90.3-100)	90 (55.5-99.7)	100 (93.4-100)
		Negativo	54 (84.4)						
	Anti-Mn	Positivo	49 (76.6)	1.38 (1.17-1.62)	0	100 (66.4-100)	27.3 (16.1-41)	18.4 (8.76-32)	100 (78.2-100)
		Negativo	15 (23.4)						
	Mn/Anti-Mn	Positivo	50 (78.1)	1.34 (1.15-1.57)	0	100 (66.4-100)	25.5 (14.7-39)	10 (8.58-31.4)	100 (76.8-100)
		Negativo	14 (21.9)						

* Prevalencia de 14%. Mn: Manano, Anti-Mn: Anti-manano, CI: Candidiasis invasora, BM: Biomarcador, IC Intervalo de confianza, LR+: Like ratio positivo, LR-: Like ratio negativo, S: Sensibilidad, E: Especificidad, VPP: Valor predictivo positivo, VPN: Valor predictivo negativo

En la tabla 20 se muestra la relación entre ScC y Biomarcadores (Mn/Anti-Mn), no se encontró una relación estadística significativa ($p=0.508$)

Tabla 20. Relación ScC /Mn y Anti-Mn

	ScC		
	SI n (%)	NO n (%)	<i>p</i>
MN/Anti-Mn Negativo	39 (84.7)	7 (15.2)	1.000
Mn/Anti-Mn Positivo	16 (88.8)	2 (11.1)	0.508

ScC: Score *Candida*, CI. Candidiasis invasora, Mn: Manano, Anti-Mn: Anti-manano

11. Discusión

Epidemiología y distribución de especies

La infección fúngica se presenta como un verdadero desafío para el equipo médico e instituciones hospitalarias actualmente, no solo por la gran cantidad de factores de riesgo que han venido en aumento en las últimas décadas, sino también, por las limitaciones en su diagnóstico debido no solo a la baja sensibilidad de los cultivos, el estándar de oro, sino también, a la demora en obtener resultados positivos.

Son cada vez más frecuentes en los pacientes de UCI y se asocian con una estancia prolongada de la hospitalización y un aumento de la mortalidad. Se considera como la 7ª a 10ª causa de ITS entre los pacientes hospitalizados y, el 30% al 35% de los episodios de candidemia ocurren en pacientes de la UCI

En el estudio realizado por Horn D.L. y colaboradores, sobre 2019 pacientes con candidemia probada, la distribución de especies mostró que *C. albicans* fue aislada en 45.6 %, *C. glabrata* 26.0 %, *C. parapsilosis* 15.7 %, *C. tropicalis* 8.1% y *C. krusei* 2.5 %. Sin embargo, al agrupar las especies *C. no albicans* la prevalencia es mayor 54.4 % que la de *C. albicans* (92)

La distribución de especies que nuestro estudio muestra, da cuenta de la situación expuesta por numerosas publicaciones sobre la prevalencia de *C. albicans*, y el aumento progresivo de las infecciones por *C. no albicans* que tiene importancia en el momento en que el clínico decide instaurar una terapia profiláctica que no está exenta de riesgo, ya que, podría incurrir en la presión de selección de cepas resistentes a azoles como *C. glabrata* y *C. krusei*, o una terapia antifúngica anticipada basado en el perfil epidemiológico sin evidencia micológica.

Las cinco especies de *Candida* más comunes son *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. krusei*. *C. albicans* fue anteriormente la especie predominante aislada en pacientes con CI, representando el 65-70% del número total de aislados de *Candida*. Sin embargo, la epidemiología ha cambiado en los últimos años, con especies *no albicans* ahora responsables de aproximadamente la mitad de los casos en algunos centros. *C. parapsilosis* tiende a ser más frecuente en el sur de Europa, Australia y América Latina que en cualquier otro lugar y *C. glabrata* es más frecuente en la población de mayor edad.

Nuestro estudio muestra que la mayoría de pacientes presentaba colonización multifocal por especies de *Candida* al momento del rastreo, lo cual podría tener implicación diagnóstica y terapéutica. Se ha documentado que además de la identificación de la presencia de factores de riesgo, la colonización por *Candida* spp. es un evento que habitualmente precede a la infección sistémica y que del 2 al 15% de los pacientes colonizados por *C. albicans* desarrollan candidiasis diseminada casi siempre de origen endógeno (91).

Índices de predicción: Score *Candida* (ScC)

La colonización e infección por *Candida* son dos acontecimientos estrechamente relacionados y sucesivos en la historia natural de la enfermedad.

La colonización multifocal es común en la UCI, en particular en los pacientes ingresados durante más de 7 días, y puede oscilar entre el 56 y el 70%. La mayor frecuencia de colonización de sitios no estériles se reporta en aspirados gástricos (45,6%), seguido de las muestras orofaríngeas (34,3%), aspirado traqueal (23,4%), hisopos perirectales (21,2%), y la orina (18,7%).

Con respecto a la relación entre la localización anatómica de la colonización por *Candida* spp y el riesgo para la CI, un estudio reciente ha demostrado que el Riesgo Relativo (RR) para la CI fue significativamente mayor en los pacientes con cultivos positivos de vigilancia de las heces o hisopos rectales que en aquellos con cultivos negativos (7,5 frente a 3,2%, $p = 0,019$), así como en pacientes con cultivos positivos que en aquellos con cultivos negativos de orina (9,2 vs. 5,2%, $p = 0,032$)

Nuestro estudio demuestra esa mayor frecuencia de colonización reportada por diferentes estudios, encontramos el mayor porcentaje de colonización en hisopado de cavidad oral con 31.5% seguido de hisopado rectal con 25.1%, e igualmente reportamos la más baja colonización en cultivos de orina con solo el 5.2%.

Se han propuesto varias reglas y puntajes de predicción basados en parámetros clínicos, de laboratorio y microbiológicos para ayudar a los médicos a identificar a pacientes con alto riesgo de desarrollar EFI.

En 2006 León y col. reportó un estudio prospectivo, observacional y multicéntrico en 1669 pacientes admitidos en UCI de 73 UCI españolas médico quirúrgicas entre mayo de 1998 y enero de 1999. Ellos identificaron 4 factores independientes asociados con un mayor riesgo de infección invasiva comprobada por *Candida*. El sistema de puntuación se construyó así: *Candida Score* = 0.908 (Nutrición parenteral total) + 0.997 (cirugía) + 1.112 (colonización multifocal por *Candida*) + 2.030 (sepsis severa), una puntuación > 2.5 con precisión identificó pacientes con mayor riesgo de infección invasiva por *Candida* (sensibilidad 81%, especificidad 74% y VPP 16%).

En 2009 León y col. en un estudio prospectivo sobre 1107 pacientes adultos ingresados en UCI entre abril de 2006 y junio de 2007 en 36 UCI médico quirúrgicas en España, Francia y Argentina, utilizaron una puntuación en valores absolutos sin

decimales y lo determinaron así: “*Score Candida*” = 1 (nutrición parenteral total) + 1(cirugía) + 1 (colonización multifocal) + 2 (sepsis severa), Demostraron una asociación significativa entre los valores crecientes de *Candida Score* y la tasa creciente de CI. La tasa de incidencia fue de 2.3, 8.5, 16.8 y 23.6 cuando la puntuación fue <3,3,4 y 5, respectivamente. Concluyeron que la CI es altamente improbable en pacientes con “*Score Candida*” < 3. (93).

En nuestro estudio se muestra que, un poco más de la mitad de los pacientes 51.5% podrían tener riesgo importante de sepsis por *Candida*. Si analizamos los casos en los cuales el “*Score Candida*” nos da un resultado concluyente positivo y aquellos en los que el puntaje no lo es, los de puntuación de 3.0 (25%) pero que no descarta tampoco el riesgo, nos damos cuenta que este índice de predicción aporta de manera efectiva. información que determinaría una decisión hacia la conducta terapéutica iniciada como profilaxis antes de su aplicación o la retirada del tratamiento instaurado como terapia anticipada si el resultado es de bajo riesgo y disminuir la tasa de uso de antifúngicos que en muchos casos resulta ser innecesario.

Teniendo en cuenta que toda la población estudiada tuvo exposición a antifúngicos de manera previa, de al menos 6 meses, era de esperarse que la probabilidad de colonización por *Candida* fuera baja y por ende los resultados del “*Score Candida*” no reflejaran una situación de riesgo en la mayoría de los casos, contrario a esto, la búsqueda activa de colonización mediante cultivos de rastreo y la adopción de un índice de predicción de CI como lo es el “*Score Candida*” que combina aspectos clínicos y de colonización, nos da la posibilidad de conocer con certeza la situación real de la población y promover conductas más asertivas para formulación de guías locales de manejo de paciente crítico en situación de riesgo de CI.

Las puntuaciones/reglas de predicción permiten la estratificación y la selección de pacientes de alto riesgo para una CI, que pueden beneficiarse de una terapia antifúngica temprana.

Rendimiento de Biomarcadores Mn, Anti-Mn y combinación Mn/Anti-Mn

El diagnóstico mediante biomarcadores tienen el potencial para avanzar en la atención al paciente, pero es necesario entender las fortalezas y limitaciones de las pruebas. El uso de pruebas inmunológicas permite una aproximación diagnóstica eficiente, lo que hace posible plantear el inicio de una TAF específica.

Con algunas probabilidades pre-test para una CI, un biomarcador sería útil porque un resultado positivo aumentaría la probabilidad de la enfermedad, por encima del umbral del 15-30%, y un resultado negativo, prácticamente excluiría el diagnóstico.

Se necesitan nuevos marcadores de la infección por *Candida* con sensibilidad y especificidad mejoradas para permitir un diagnóstico más temprano, a ser posible, para proporcionar información sobre el pronóstico y/o monitorización terapéutica.

El diagnóstico de micosis invasivas causadas por especies de *Candida* representa un desafío permanente ante el paciente crítico, su diagnóstico “Estándar de oro” basado en la confirmación histopatológica y cultivos de tejidos profundos, requiere un enfoque agresivo que en muchos pacientes no es posible realizar o están contraindicados debido a su condición crítica. Para superar estas limitaciones, los ensayos de detección de antígenos y anti cuerpos de *Candida* han sido desarrollados y evaluados desde distintos escenarios para el diagnóstico de CI.

El antígeno manano expone características que hay que tener presentes como:

- Es un polisacárido que se encuentra en la pared celular de la mayoría de especies del género *Candida* de importancia clínica y es claro que cada especie tiene diferente contenido de este por lo que la determinación

serológica es variable, las especies que se relacionan con niveles bajos o negativos en la determinación de antígeno manano son *C. krusei* y *C. parapsilosis*.

- Normalmente, está presente formando inmunocomplejos con los anticuerpos anti-manano presentes en el suero de la mayoría de los pacientes, su naturaleza polisacárida permite su disociación de estos complejos utilizando enzimas proteolíticas o calentamiento que destruyan los anticuerpos y dejan el antígeno libre para ser detectado
- Es rápidamente eliminado de la circulación, por lo que es necesario hacer determinaciones seriadas en un paciente para aumentar las posibilidades de detección.
- Dado que la antigenemia en los pacientes con CI es transitoria, es posible que se necesite la combinación de técnicas para mejorar la sensibilidad diagnóstica

Los estudios iniciales demostraron que la detección de manano en pacientes con CI permitieron un diagnóstico específico, pero poco sensible debido a la duración de la mananemia.

Con respecto a los anticuerpos anti-manano, tiene dos limitaciones básicamente: 1. Títulos altos en pacientes que se encuentran colonizados por *Candida* spp. y 2. La respuesta de anticuerpos está determinada por el estado inmunológico del paciente, puede estar disminuida o ausente en pacientes neutropénicos y/o inmunosuprimidos.

Valores esperados

De acuerdo al fabricante los datos de la efectividad de la prueba de Mn y AMn para una prevalencia (intermedios considerados como positivos) de 22.7%, 95% IC (19.4-26.2%), Platelia™ *Candida* Ag plus presenta una sensibilidad (intermedias

consideradas como positivas) de 76.2%, 95% IC (52.8-92.8) y para una prevalencia de 40.8%, 95%IC (36.9-44.8%) Platelia™ *Candida* Ab plus (intermedias consideradas como positivas) de 71.4, 95% IC (47.8-88.7).

En un meta-análisis de 14 estudios publicado por Mikulska y col. (94) que incluyó un número variable de pacientes por estudio de 7 a 105, con una media de 25, se observó una población diversa, 4 estudios tomaron casos de neoplasias hematológicas, 3 casos de cáncer y 7 en casos de UCI y cirugía, la mediana de la sensibilidad de todos los estudios fue del 62%, desde el 31% del estudio de Prella y col. (78) a 100% en el estudio de Senddi y col. , que informaron siete casos de candidemia por *C. tropicalis* (95). La sensibilidad global agrupada por paciente de Mn se evaluó los 14 estudios, en 453 pacientes y arrojó una sensibilidad del 58% (IC del 95%, 53-62), la prueba de anticuerpos se realizó en 10 estudios con un total de 284 pacientes, y la sensibilidad del ensayo de anticuerpos fue del 59% (ID 95%, 54-65), con una mediana de 57%, que va del 44 al 100% (96) (78). La mediana de la sensibilidad de las pruebas combinadas Mn/Anti-Mn (es decir, cuando al menos uno de las dos eras positivas) fue de 86%, variando de 71% a 100%. La sensibilidad global combinada de Mn y Anti-Mn para la CI fue del 83% (IC 95%, 79-87). Once estudios incluyeron un grupo de control, que permite la evaluación de la especificidad y el cálculo de DOR. La especificidad de la prueba de Mn se realizó en los once estudios y resultó con un rango del 65% en el estudio de Ellis y col. (78) a 100% en el estudio informado por Allam y col. (97), con una especificidad combinada global de 93% (IC 95%, 91-94). Para la prueba de Anti-Mn la especificidad se evaluó en siete estudios y con un resultado global agrupado de 83% (IC 95%, 79-97), que varió del 38% al 100%. La especificidad global del ensayo combinado Mn/Anti-Mn fue del 86% (IC 95%, 82-90). La mayoría de los datos son para diagnóstico de candidemia, Para candidiasis Intraabdominal y candidiasis profunda de otro origen, en un estudio multicéntrico tanto

el Mn como en Anti-Mn demostraron una baja sensibilidad (40% y 25%, respectivamente).

Validez de la prueba diagnóstica: Sensibilidad y Especificidad.

Se necesita más investigación clínica para establecer el papel de los biomarcadores en el estudio de pacientes con alto riesgo de CI. Se sugirió que los desencadenantes diagnósticos podrían ser; pacientes con alto riesgo de CI, con probabilidades pre test de 15-35% para CI y pacientes de la UCI identificados como de riesgo intermedio de CI.

La mayoría de estudios reportan una sensibilidad de la prueba que suele estar entre el 40% y el 60% (76) y una especificidad de 70% al 88%, se logra mejorar en la sensibilidad a un 76% mediante la combinación de los antígenos y anticuerpos contra *Candida* (92). Las causas probablemente se atribuyen al comportamiento y características del antígeno explicadas anteriormente. La prevalencia que muestra nuestro estudio en los dos escenarios planteados de candidiasis posible y candidiasis probable, 28% y 14% respectivamente nos permite determinar que, la sensibilidad en la detección del antígeno de manano es baja en CI posible (11.1%) mientras que, en CI probable es elevada (100%). En el caso de anticuerpo anti manano la sensibilidad en CI posible es del 77.1%, y de igual forma que en la determinación de antígeno manano en CI probable, la prueba de anticuerpo anti manano sigue mostrando una sensibilidad del 100%. Si analizamos las pruebas combinadas la sensibilidad que se muestra es del 77.8% en CI posible y 100% en CI probable. A pesar de que no se encontraron altos niveles de sensibilidad en CI posible, y los resultados difieren de lo referido en estudios antes mencionados, cabe destacar que solo un estudio incluido en el meta-análisis de Mikulska y col., fue prospectivo (78), y los resultados obtenidos difirieron de forma importante de los otros estudios.

Nuestro estudio revela que si bien es cierto, una sola determinación de manano resulta en una baja sensibilidad, la determinación seriada mínimo en dos muestras, aumentan la frecuencia de casos probables de CI, como lo describe en su estudio Ellis M, y col. (78).

El estudio publicado por Alam y col. (2007) sugiere que la determinación combinada de Mn y Anti-Mn mejora considerablemente el diagnóstico de CI. De igual forma, nuestro estudio muestra un aumento en la sensibilidad cuando se apoya la determinación del antígeno manano con el anticuerpo anti manano, las cinéticas de las pruebas fueron complementarias. Tanto en CI posible como en CI probable se obtienen buenos resultados en sensibilidad para la prueba combinada manano/anti manano, pero es claro que, la sensibilidad baja de la prueba de manano por sí sola no la perfila como un buen biomarcador, probablemente en nuestro estudio, una de las limitaciones que mejor podría explicar los resultados es la intervención de terapia antifúngica empírica.

Ahora bien, si analizamos la especificidad mostrada por nuestro estudio tanto de manano 82.6%, como de anti manano 98.6%, los resultados indican que de forma independiente son un buen marcador de enfermedad, y que la combinación de ellos disminuye desfavorablemente ese valor de especificidad, restándole fuerza a la validez de la prueba. Muy seguramente las características clínicas de nuestra población de estudio y el número limitado de muestras probadas influyan en los resultados, que difieren sustancialmente de los informados por Mikulska y col. (2010). Esto refleja las dificultades para comparar los resultados de estudios con diferentes criterios diagnósticos en diversas poblaciones.

Seguridad de la prueba diagnóstica: Valores predictivos. En las diferentes poblaciones definidas como de alto riesgo para desarrollar CI como nuestra

población (paciente crítico en UCI), los estudios prospectivos están garantizados para confirmar las ventajas de las pruebas de manano y anti manano en la práctica clínica diaria. La ECIL en 2005, recomienda estudiarse por separado cada grupo (pacientes con neoplasias hematológicas, pacientes con cirugía abdominal, paciente en UCI, etc.) para sacar conclusiones confiables sobre el valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN).

The Cava Trem Study Group y col. en 2016 publicaron resultados de su estudio prospectivos en 233 pacientes no neutropénicos con condición de sepsis abdominal severa internados en UCI. Las determinaciones de las pruebas de Mn y Anti-Mn para su grupo de riesgo fueron evaluadas en sensibilidad, especificidad, VPP y VPN. Evidenciaron una VPN para Mn de 88.7, IC 95% (85.0-91.6%) y para Anti-Mn de 88.6, IC 95% (86.2-90.6), mientras que en VPP reportaron 16.7, IC 95% (11.3-24.7%) para Mn y 26.7, IC 95% (15.1-42.6%). Nuestro estudio aportó un VPN y VPP comparable a pesar de que nuestra población fue heterogénea en cuanto al origen de la posible o probable CI. Nuestros resultados mostraron un 70.4%, 73.3% y 71.4% con un IC 95% respectivamente en CI posible en Mn, ANTI-MN y combinación de Mn/Anti-Mn, mientras que en CI probable fue del 100% con un IC 95% en cualquiera de los biomarcadores incluso en combinación, el VPP en CI posible fue de 20%, 28% y 28.6% con un IC 95% en Mn, Anti-Mn y combinación de Mn/Anti-Mn respectivamente y en CI probable fue de 90%, 18.4% y 10% con un IC 95% respectivamente.

Nuestro estudio aportó un VPN de 70.4%, 73.3% y 71.4% con un IC 95% respectivamente en CI posible en Mn, ANTI-MN y combinación de Mn/Anti-Mn, mientras que en CI probable fue del 100% con un IC 95% en cualquiera de los biomarcadores incluso en combinación, el VPP en CI posible fue de 20%, 28% y 28.6% con un IC 95% en Mn, Anti-Mn y combinación de Mn/Anti-Mn respectivamente y en CI probable fue de 90%, 18.4% y 10% con un IC 95% respectivamente.

En cuanto a valores predictivos, el VPP del ensayo de Platelia en el estudio de Ellis y col. (2009) fue bajo, estos datos se reproducen en nuestro estudio si tenemos en cuenta la baja prevalencia de la enfermedad en nuestro grupo poblacional. Igualmente, encontramos concordancia con el VPN eficientemente alto cuando hay baja prevalencia. Por lo tanto, coincidimos en que la fortaleza de la prueba de Platelia está en excluir la CI en la población estudiada.

Impacto de una TAF, temprana y adecuada

Las enormes dificultades para el diagnóstico de CI y en particular en los pacientes con hospitalización en UCI, conlleva a que la gran mayoría de pacientes con sospecha de infección fúngica reciban TAF empírica y/o anticipada. La TAF empírica representa alrededor del 42% del uso de antifúngicos en hospitales de tercer nivel, una TAF empírica para la sospecha de CI en la UCI puede conducir al uso excesivo de medicamentos antifúngicos

El uso racional de los antifúngicos sistémicos es una necesidad latente en pro del bienestar del paciente teniendo en cuenta que son tratamientos de administración prolongada, que los efectos secundarios de TAF para el paciente ya sea por su naturaleza tóxica o por los efectos adversos son condiciones que hay que tener en cuenta, que el desarrollo de resistencia de *Candida* frente a antifúngicos de uso continuo es de evolución constante por la desmedida exposición., que el aumento del valor de la concentración inhibitoria mínima para sensibilidad es una alerta que no debemos desestimar, todo esto sumado a los altos costos que acarrea para una institución hospitalaria el hecho de una prolongada estancia en hospitalización.

En nuestro estudio la TAF temprana se utilizó en el 51.5% de casos y en general consistió en monoterapia con FCZ o CAS en una proporción de 42.4% en ambos

casos. Se realizó cambio de terapia en 15.1% de casos hacia anidulafungina (ANI), motivado ya sea por la identificación de especies en la búsqueda de colonización multifocal, por la disponibilidad del antifúngico o por la evolución clínica poco satisfactoria a pesar de estar bien dirigido.

Por lo tanto, la disponibilidad de pruebas alternativas diferentes al cultivo, que sean evaluadas por el centro antes de que se introduzcan en la práctica podrían apoyar el inicio o la interrupción de la TAF temprana. Los estudios acerca del uso combinado de biomarcadores de *Candida* para diagnóstico de CI y seguimiento de TAF son muy limitados, y si nos referimos a la combinación de Mn y Anti-Mn más aún y la literatura es escasa. Un estudio interesante de León y col. (2016) muestra una serie en la cual el porcentaje de pacientes (51%) recibieron TAF temprano, de los cuales 76.5% no tenían una CI documentada (98),. Este es un estudio, prospectivo, de cohortes, observacional y multicéntrico en pacientes adultos no neutropénicos con hospitalización en UCI con condición abdominal severa y una estancia esperada de ≥ 7 días, pero que difiere del nuestro en la elección de biomarcadores ellos prueban biomarcadores como BDG (1-3 β D-glucano), CAGTA (*Candida albicans germ tube Antibody*), C-PCR (Reacción en cadena de polimerasa para detección de ADN de *Candida*), el MN y Anti-Mn. En la primera combinación de BDG y CAGTA, el TAF estaba indicado por el médico siempre y cuando dos determinaciones de un biomarcador era positiva o lo estuviera dentro de las primeras 48 horas, o podía suspender TAF cuando cualquiera de los biomarcadores era negativo incluso en una sola muestra debido al alto valor predictivo de las pruebas en combinación. Sin embargo, los resultados mostrados por estos investigadores en el caso de la segunda combinación de biomarcadores de C-PCR y Mn y Anti-Mn fueron de poco valor para discriminar una CI de una colonización por *Candida* spp.

Martínez-Jiménez y col. (2015) (99) igualmente en su estudio de Combinación de biomarcadores de *Candida* en pacientes que reciben terapia antifúngica empírica sugiere una reducción en la duración del tratamiento mediante el uso de esta herramienta. La determinación seriada y combinada de BDG y CAGTA durante el TAF empírico tiene una alta sensibilidad y VPN. Así, esta estrategia podría utilizarse para interrumpir el TAF de manera segura en el día 5 en al menos el 31% de los pacientes como una herramienta complementaria en los programas administración de antifúngicos.

De otro lado, en el estudio de Bailly y col. (2015) (100) en el que incluyeron un número de 647 pacientes, en 142 pacientes (22%) se hizo desescalada temprana al día 5 del inicio del TAF y concluyeron que en una población de adultos no neutropénicos críticamente enfermos con CI documentada o sospechada la disminución del TAF en 5 días no se relacionó con una mayor mortalidad en el día 28 de seguimiento, pero se asoció con un menor consumo de antifúngicos sistémicos. Estos resultados sugieren por primera vez que la disminución de TAF puede ser segura en estos pacientes.

En nuestro estudio, el impacto del TAF frente a la mortalidad cruda no mostro resultados estadísticamente significativos ($p= 0.609$). Sin embargo, el 69.9% del absoluto de mortalidad mostró un índice de predicción positivo como es el ScC que recomienda la continuación de TAF por el riesgo alto de CI.

Nuestros resultados muestran que el problema en la UCI de alta sospecha y relativamente baja prevalencia de infección entre los pacientes tratados podría influenciar en las decisiones con respecto al tiempo de permanencia del tratamiento. El manejo de CI en el contexto de la UCI ha sido foco de amplia discusión en las directrices internacionales. Tanto las directrices europeas como las de EE. UU hacen especial énfasis en la necesidad de intentar un diagnóstico rápido y la instauración de

una terapia temprana y empírica basada en la identificación de pacientes con alto riesgo que realmente podrían beneficiarse de esta directriz.

Conclusiones

Siempre se ha asociado a pacientes con características especiales de inmunosupresión al riesgo de candidiasis invasora, sin embargo, hay poblaciones que presentan riesgo como consecuencia de las patologías que requieren ingreso en UCI. En consecuencia, el paciente crítico asume una condición de especial riesgo tal como se ve en nuestro estudio, en el cual la patología que se asoció con mayor frecuencia fue la de origen infeccioso evidenciado con manifestaciones de SIRS.

Las infecciones causadas por *Candida* han aumentado en número y en diversidad en los últimos años, principalmente debido al aumento de los pacientes con riesgo de infecciones invasoras. Aunque *C. albicans* continúa siendo la especie más frecuentemente aislada, sin marcar demasiada diferencia con respecto a las especies no *albicans*, estas alcanzan un porcentaje significativo para la epidemiología local, siendo *C. glabrata* la especie que más se rescata en los cultivos de rastreo de colonización.

Aunque el “*Score Candida*” no es una escala dirigida a medir el riesgo de mortalidad, La aplicación en nuestro estudio obtuvo una significancia estadísticamente importante en este sentido, más de la mitad de los casos presentaron resultado positivo o intermedio en el *Score*, tomando los casos intermedios como positivos, lo que refleja el valor pronóstico del índice de predicción y la instauración de los cultivos de rastreo de colonización por *Candida* spp., en la UCI. Sería importante el seguimiento de los pacientes con la aplicación de “*Score Candida*” como una herramienta para disminuir mortalidad.

El empleo de los biomarcadores Mn y Anti-Mn para el diagnóstico precoz de una CI parece convertirse en un apoyo real y necesario; sin embargo, es imperativo destacar

que se prefiere el uso de Mn/Anti-Mn en determinación seriada y en combinación para obtener mejor rendimiento. El resultado más interesante en nuestro estudio fue el VPN que demuestra la efectividad de la prueba para descartar una CI. Sería importante incluir otros elementos clínicos en la definición de CI probable para hacerla más sensible, de esta manera ver si se llega a la misma conclusión.

La heterogeneidad en el rendimiento según especie, presentando el mejor desempeño en pacientes con infección por *C. albicans*, *C. glabrata* o *C. tropicalis*, nos da un amplio rango de seguridad frente a la sensibilidad de la prueba teniendo en cuenta que son las especies que se encuentran con mayor frecuencia en nuestra epidemiología local.

Los métodos diagnósticos independientes del cultivo para la CI tienen el potencial de transformar la atención del paciente. La optimización del uso de ensayos y la interpretación de los resultados en cada unidad debe ser planeada y probada antes de la formulación de estrategias de diagnóstico y tratamiento, de lo contrario pueden ser poco útiles teniendo en cuenta las limitaciones de la prueba.

Los estudios prospectivos podrían confirmar los beneficios en términos de resultado si el TAF preventivo se inicia temprano sobre la base de resultados positivos de Mn o Anti-Mn, de igual forma, los resultados negativos habrían permitido detener la terapia antifúngica con total confianza.

La reducción del uso innecesario de antifúngicos debe ser uno de los principales objetivos de los programas de AFS.

Bibliografía

1. Guarro J. Taxonomía y biología de los hongos causantes de infección en humanos. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. 1 de enero de 2012;30(1):33-9.
2. Márquez F, Iturrieta I, Calvo M, Urrutia M, Godoy-Martínez P, Márquez F, et al. Epidemiología y susceptibilidad antifúngica de especies causantes de candidemia en la ciudad de Valdivia, Chile. *Rev Chil Infectol*. octubre de 2017;34(5):441-6.
3. Garcia-Vidal C, Carratalà J. Patogenia de la infección fúngica invasora. *Enfermedades Infecc Microbiol Clínica*. 1 de marzo de 2012;30(3):151-8.
4. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. *Clin Microbiol Rev*. 1 de enero de 2007;20(1):133-63.
5. Miceli MH, Díaz JA, Lee SA. Emerging opportunistic yeast infections. *Lancet Infect Dis*. febrero de 2011;11(2):142-51.
6. Pfaller MA, Diekema DJ. Rare and Emerging Opportunistic Fungal Pathogens: Concern for Resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *J Clin Microbiol*. 10 de enero de 2004;42(10):4419-31.
7. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Ellis D, Tullio V, et al. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: a 10.5-Year Analysis of Susceptibilities of *Candida* Species to Fluconazole and Voriconazole as Determined by CLSI Standardized Disk Diffusion. *J Clin Microbiol*. 4 de enero de 2010;48(4):1366-77.
8. Selmecki A, Forche A, Berman J. Genomic Plasticity of the Human Fungal Pathogen *Candida albicans*. *Eukaryot Cell*. 7 de enero de 2010;9(7):991-1008.
9. Pryszcz LP, Németh T, Gácsér A, Gabaldón T. Unexpected Genomic Variability in Clinical and Environmental Strains of the Pathogenic Yeast *Candida parapsilosis*. *Genome Biol Evol*. 1 de diciembre de 2013;5(12):2382-92.
10. Ruiz-Herrera J, Victoria Elorza M, Valentín E, Sentandreu R. Molecular organization of the cell wall of *Candida albicans* and its relation to pathogenicity. *FEMS Yeast Res*. 1 de enero de 2006;6(1):14-29.
11. Chaffin WL, López-Ribot JL, Casanova M, Gozalbo D, Martínez JP. Cell Wall and Secreted Proteins of *Candida albicans*: Identification, Function, and Expression. *Microbiol Mol Biol Rev*. 3 de enero de 1998;62(1):130-80.
12. Ruiz-Herrera J. Biosynthesis of β -glucans in fungi. *Antonie Van Leeuwenhoek*. 1 de agosto de 1991;60(2):73-81.
13. Pontón J. La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina. *Rev Iberoam Micol*. 1 de junio de 2008;25(2):78-82.
14. Iván Martínez-Duncker. Trastornos congénitos de la glicosilación: abordaje clínico y de laboratorio. *Acta Pediátrica*. abril de 2008;29(2):78-82.
15. Pontón J, Asociación Española de Micología. Hongos y actinomicetos alérgicos. Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología; 2002.

16. López-Ribot JL, Casanova M, Murgui A, Martínez JP. Antibody response to *Candida albicans* cell wall antigens. FEMS Immunol Med Microbiol. 1 de julio de 2004;41(3):187-96.
17. Hubbard MJ, Surarit R, Sullivan PA, Shepherd MG. The isolation of plasma membrane and characterisation of the plasma membrane ATPase from the yeast *Candida albicans*. Eur J Biochem. 1 de enero de 1986;154(2):375-81.
18. Tapia C. Mecanismos de acción, reacciones adversas y nuevos antimicóticos. Medwave [Internet]. 1 de mayo de 2005 [citado 4 de marzo de 2018];5(04). Disponible en: /link.cgi/Medwave/PuestaDia/Cursos/3548
19. Bonifaz Trujillo JA. Micología médica básica (4a. ed.) [Internet]. McGraw Hill Mexico; 2012. Disponible en: <https://books.google.com.co/books?id=uUSEBgAAQBAJ>
20. Jacobsen ID, Wilson D, Wächter B, Brunke S, Naglik JR, Hube B. *Candida albicans* dimorphism as a therapeutic target. Expert Rev Anti Infect Ther. 1 de enero de 2012;10(1):85-93.
21. Kadosh D, Johnson AD. Induction of the *Candida albicans* Filamentous Growth Program by Relief of Transcriptional Repression: A Genome-wide Analysis. Mol Biol Cell. 6 de enero de 2005;16(6):2903-12.
22. Carlisle PL, Banerjee M, Lazzell A, Monteagudo C, López-Ribot JL, Kadosh D. Expression levels of a filament-specific transcriptional regulator are sufficient to determine *Candida albicans* morphology and virulence. Proc Natl Acad Sci. 13 de enero de 2009;106(2):599-604.
23. Ernst JF. Transcription factors in *Candida albicans* – environmental control of morphogenesis. Microbiology. 2000;146(8):1763-74.
24. Rivera LEC, Ramos AP, Desgarennes CP. Factores de virulencia en *Candida* sp. 2005;16.
25. Salas I, García J, Miranda K. Factores de virulencia en cepas *Candida albicans*. Rev Costarric Cienc Médicas. junio de 2000;21(1-2):43-9.
26. Calamari S, Bojanich A, Barembaum S, Azcurra A, Virga C, Dorronsoro S. [High molecular weight chitosan and sodium alginate effect on secretory acid proteinase of *Candida albicans*]. Rev Iberoam Micol. 1 de diciembre de 2004;21(4):206-206-8.
27. Silva S, Hooper SJ, Henriques M, Oliveira R, Azeredo J, Williams DW. The role of secreted aspartyl proteinases in *Candida tropicalis* invasion and damage of oral mucosa. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. 1 de febrero de 2011;17(2):264-264-72.
28. Tsuboi R, Komatsuzaki H, Ogawa H. Induction of an extracellular esterase from *Candida albicans* and some of its properties. Infect Immun. 1 de agosto de 1996;64(8):2936-2936-40.
29. Coutinho HD. Factors influencing the virulence of *Candida* spp. West Indian Med J. 1 de marzo de 2009;58(2):160-160-3.
30. Mühlischlegel FA, Fonzi WA. PHR2 of *Candida albicans* encodes a functional homolog of the pH-regulated gene PHR1 with an inverted pattern of pH-dependent expression. Mol Cell Biol. 10 de enero de 1997;17(10):5960-7.

31. Saville SP, Lazzell AL, Monteagudo C, Lopez-Ribot JL. Engineered Control of Cell Morphology In Vivo Reveals Distinct Roles for Yeast and Filamentous Forms of *Candida albicans* during Infection. *Eukaryot Cell*. 10 de enero de 2003;2(5):1053-60.
32. Brassart D, Woltz A, Golliard M, Neeser JR. In vitro inhibition of adhesion of *Candida albicans* clinical isolates to human buccal epithelial cells by Fuc alpha 1----2Gal beta-bearing complex carbohydrates. *Infect Immun*. 5 de enero de 1991;59(5):1605-13.
33. Panizo MM, Reviákina V. Adhesinas y receptores involucrados en el fenómeno de adherencia de *Candida albicans* a las células epiteliales. *Rev Soc Venez Microbiol*. enero de 2001;21(1):05-11.
34. Filler SG. *Candida*–host cell receptor–ligand interactions. *Curr Opin Microbiol*. 1 de agosto de 2006;9(4):333-9.
35. Sturtevant J, Calderone R. Key words Summary *Candida albicans* adhesins: Biochemical aspects and virulence. 1997. 90-97 p.
36. Bailey A, Wadsworth E, Calderone R. Adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells: host-induced protein synthesis and signaling events. *Infect Immun*. 2 de enero de 1995;63(2):569-72.
37. Casanova M, Lopez-Ribot JL, Monteagudo C, Llombart-Bosch A, Sentandreu R, Martinez JP. Identification of a 58-kilodalton cell surface fibrinogen-binding mannoprotein from *Candida albicans*. *Infect Immun*. 10 de enero de 1992;60(10):4221-9.
38. Gilmore BJ, Retsinas EM, Lorenz JS, Hostetter MK. An iC3b Receptor on *Candida albicans*: Structure, Function, and Correlates for Pathogenicity. *J Infect Dis*. 1 de enero de 1988;157(1):38-46.
39. Gustafson KS, Vercellotti GM, Bendel CM, Hostetter MK. Molecular mimicry in *Candida albicans*. Role of an integrin analogue in adhesion of the yeast to human endothelium. *J Clin Invest*. 1 de junio de 1991;87(6):1896-902.
40. Ramage G, Rajendran R, Sherry L, Williams C. Fungal Biofilm Resistance. *Int J Microbiol*. 2012;2012:1-14.
41. Gow NA, Hube B. Importance of the *Candida albicans* cell wall during commensalism and infection. *Curr Opin Microbiol*. 1 de agosto de 2012;15(4):406-12.
42. Tronchin G, Pihet M, Lopes-Bezerra LM, Bouchara JP. Adherence mechanisms in human pathogenic fungi. *Med Mycol*. 1 de diciembre de 2008;46(8):749-749-72.
43. Blanco MT, Sacristán B, Lucio L, Blanco J, Pérez-Giraldo C, Gómez-García AC. [Cell surface hydrophobicity as an indicator of other virulence factors in *Candida albicans*]. *Rev Iberoam Micol*. 2010;27(4):195-9.
44. Karkowska-Kuleta J, Rapala-Kozik M, Kozik A. Fungi pathogenic to humans: molecular bases of virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*. 2009;56:14.
45. Mavor AL, Thewes S, Hube B. Systemic Fungal Infections Caused by *Candida* Species: Epidemiology, Infection Process and Virulence Attributes. *Curr Drug Targets*. 1 de diciembre de 2005;6(8):863-74.

46. King RD, Lee JC, Morris AL. Adherence of *Candida albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells. *Infect Immun*. 2 de enero de 1980;27(2):667-74.
47. Enache E, Eskandari T, Borja L, Wadsworth E, Hoxter B, Calderone R. *Candida albicans* adherence to a human oesophageal cell line. *Microbiology*. 1996;142(10):2741-6.
48. Schaller M, Borelli C, Korting HC, Hube B. Hydrolytic enzymes as virulence factors of *Candida albicans*. *Mycoses*. 1 de noviembre de 2005;48(6):365-77.
49. Sheppard DC, Filler SG. Host Cell Invasion by Medically Important Fungi. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 1 de enero de 2015;5(1):a019687.
50. Villar CC, Kashleva H, Nobile CJ, Mitchell AP, Dongari-Bagtzoglou A. Mucosal Tissue Invasion by *Candida albicans* Is Associated with E-Cadherin Degradation, Mediated by Transcription Factor Rim101p and Protease Sap5p. *Infect Immun*. 5 de enero de 2007;75(5):2126-35.
51. García JP. Aspectos epidemiológicos de las micosis en el paciente crítico. *Rev Esp Quimioter*. 2008;21(Extra 1):7-8.
52. Quindós G. Epidemiology of *candidemia* and invasive candidiasis. A changing face. *Rev Iberoam Micol*. enero de 2014;31(1):42-8.
53. Delaloye J, Calandra T. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. *Virulence*. 1 de enero de 2014;5(1):161-9.
54. Puig-Asensio M, Padilla B, Garnacho-Montero J, Zaragoza O, Aguado JM, Zaragoza R, et al. Epidemiology and predictive factors for early and late mortality in *Candida* bloodstream infections: a population-based surveillance in Spain. *Clin Microbiol Infect*. 20(4):O245-54.
55. Chen S, Slavin M, Nguyen Q, Marriott D, Playford EG, Ellis D, et al. Active Surveillance of Candidemia, Australia. *Emerg Infect Dis*. octubre de 2006;12(10):1508-16.
56. Cortés JA, Jaimes JA, Leal AL. Incidencia y prevalencia de candidemia en pacientes críticamente enfermos en Colombia. *Rev Chil Infectol*. diciembre de 2013;30(6):599-604.
57. Cortés JA, Reyes P, Gómez C, Buitrago G, Leal AL. Fungal bloodstream infections in tertiary care hospitals in Colombia. *Rev Iberoam Micol*. abril de 2011;28(2):74-8.
58. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ, Messer SA, et al. International Surveillance of Bloodstream Infections Due to *Candida* Species: Frequency of Occurrence and Antifungal Susceptibilities of Isolates Collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY Program. *J Clin Microbiol*. 7 de enero de 1998;36(7):1886-9.
59. G.Motoa. Epidemiology of *Candida* isolates from Intensive Ca...: Buscador de Texto Completo. [Internet]. [citado 10 de junio de 2018]. Disponible en: <http://resolver.ebscohost.com.bdigital.ces.edu.co:2048/openurl?sid=Elsevier%3aSD&genre=article&issn=11301406&date=2017&volume=34&issue=1&spage=17&site=ftf-live>
60. Cortes JA, Reyes P, Gomez C, Buitrago G, Leal AL. Fungal bloodstream infections in tertiary care hospitals in Colombia. *Rev Iberoam Micol*. 2011;28(2):74-8.

61. Galván B, Mariscal F. Epidemiología de la candidemia en UCI. Rev Iberoam Micol. marzo de 2006;23(1):12-5.
62. Garnacho-Montero J, Díaz-Martín A, Ruiz-Pérez De Piappón M, García-Cabrera E. Infección fúngica invasiva en los pacientes ingresados en las áreas de críticos. Enfermedades Infecc Microbiol Clínica. :338-43.
63. Marchetti O, Bille J, Fluckiger U, Eggimann P, Ruef C, Garbino J, et al. Epidemiology of Candidemia in Swiss Tertiary Care Hospitals: Secular Trends, 1991–2000. Clin Infect Dis. 1 de febrero de 2004;38(3):311-20.
64. Tobar A E, Silva O F, Olivares C R, Gaete G P, Luppi N M. Candidiasis invasoras en el paciente crítico adulto. Rev Chil Infectol. febrero de 2011;28(1):41-9.
65. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 15 de junio de 2008;46(12):1813-1813-21.
66. Nadal CF, Díaz C, Rubio H, Navarro ML. Infección fúngica invasiva (IFI): actualización. :13.
67. Renau AI, García-Vidal C, Salavert M. [Invasive yeast infections in severely burned patients]. Rev Iberoam Micol. 7 de septiembre de 2016;33(3):160-9.
68. León C, Ostrosky-Zeichner L, Schuster M. What's new in the clinical and diagnostic management of invasive candidiasis in critically ill patients. Intensive Care Med. 1 de junio de 2014;40(6):808-19.
69. Ahmed A, Baronia AK, Azim A, Marak RSK, Yadav R, Sharma P, et al. External Validation of Risk Prediction Scores for Invasive Candidiasis in a Medical/Surgical Intensive Care Unit: An Observational Study. Indian J Crit Care Med Peer-Rev Off Publ Indian Soc Crit Care Med. agosto de 2017;21(8):514-20.
70. Hsu JL, Ruoss SJ, Bower ND, Lin M, Holodniy M, Stevens DA. Diagnosing invasive fungal disease in critically ill patients. Crit Rev Microbiol. noviembre de 2011;37(4):277-312.
71. Paphitou NI, Ostrosky-Zeichner L, Rex JH. Rules for identifying patients at increased risk for *Candida* infections in the surgical intensive care unit: approach to developing practical criteria for systematic use in antifungal prophylaxis trials. Med Mycol. mayo de 2005;43(3):235-43.
72. Dupont H, Bourichon A, Paugam-Burtz C, Mantz J, Desmonts JM. Can yeast isolation in peritoneal fluid be predicted in intensive care unit patients with peritonitis? Crit Care Med. 1 de marzo de 2003;31(3):752-752-7.
73. Shorr AF, Tabak YP, Johannes RS, Sun X, Spalding J, Kollef MH. Candidemia on presentation to the hospital: development and validation of a risk score. Crit Care Lond Engl. 1 de enero de 2009;13(5):R156-R156.
74. V A, S S. Biomarkers for the evaluation of human health risks. Rev Fac Nac Salud Pública. abril de 2012;30(1):75-82.

75. Bedout C de, Gómez BL. *Candida* y candidiasis invasora: un reto continuo para su diagnóstico temprano. Infectio [Internet]. 15 de septiembre de 2011 [citado 5 de julio de 2018];14(2S). Disponible en: <http://www.revistainfectio.org/index.php/infectio/article/view/27>
76. Martínez-Garnica DE, Jiménez-Jiménez M, Ramírez-Guerrero C, López-Martínez B. Evaluación de la utilidad clínica de la prueba ELISA de detección de Ag manano de *Candida* para el diagnóstico de la candidiasis invasiva en pacientes pediátricos. :5.
77. Pontón J. Utilidad de los marcadores biológicos en el diagnóstico de la candidiasis invasora. Rev Iberoam Micol. 1 de marzo de 2009;26(1):8-14.
78. Pemán J, Zaragoza R. [Towards an early diagnosis of invasive candidiasis in the critically ill patient]. Rev Iberoam Micol. 4 de junio de 2012;29(2):71-5.
79. Ellis M, Al-Ramadi B, Bernsen R, Kristensen J, Alizadeh H, Hedstrom U. Prospective evaluation of mannan and anti-mannan antibodies for diagnosis of invasive *Candida* infections in patients with neutropenic fever. J Med Microbiol. 1 de mayo de 2009;58(5):606-15.
80. Kimura LH, Pearsall NN. Relationship between germination of *Candida albicans* and increased adherence to human buccal epithelial cells. Infect Immun. 5 de enero de 1980;28(2):464-8.
81. Martínez-Jiménez MC, Muñoz P, Valerio M, Alonso R, Martos C, Guinea J, et al. *Candida* biomarkers in patients with *Candidaemia* and bacteraemia. J Antimicrob Chemother. agosto de 2015;70(8):2354-61.
82. Martínez-Jiménez MC, Muñoz P, Guinea J, Valerio M, Alonso R, Escribano P, et al. Potential role of *Candida albicans* germ tube antibody in the diagnosis of deep-seated candidemia. Med Mycol. 1 de abril de 2014;52(3):270-5.
83. Pazos C, Pontón J, Palacio AD. Contribution of (1→3)-β-d-Glucan Chromogenic Assay to Diagnosis and Therapeutic Monitoring of Invasive Aspergillosis in Neutropenic Adult Patients: a Comparison with Serial Screening for Circulating Galactomannan. J Clin Microbiol. 1 de enero de 2005;43(1):299-305.
84. Ruhnke M. Antifungal stewardship in invasive *Candida* infections. Clin Microbiol Infect. 20(s6):11-8.
85. Lewis RE. Current Concepts in Antifungal Pharmacology. Mayo Clin Proc. 1 de agosto de 2011;86(8):805-17.
86. Maertens J, Marchetti O, Herbrecht R, Cornely OA, Flückiger U, Frère P, et al. European guidelines for antifungal management in leukemia and hematopoietic stem cell transplant recipients: summary of the ECIL 3—2009 Update. Bone Marrow Transplant. mayo de 2011;46(5):709-18.
87. del Palacio A, Alhambra A, Cuétara MS. Estrategias de tratamiento: profilaxis, tratamiento empírico, precoz (anticipado) y dirigido de candidiasis invasora en el enfermo crítico no neutropénico. Rev Iberoam Micol. marzo de 2006;23(1):35-8.
88. Lam SW, Eschenauer GA, Carver PL. Evolving role of early antifungals in the adult intensive care unit. Crit Care Med. mayo de 2009;37(5):1580.

89. Timsit J-F, Chemam S, Bailly S. Empiric/pre-emptive anti-*Candida* therapy in non-neutropenic ICU patients. F1000Prime Rep [Internet]. 3 de febrero de 2015 [citado 22 de septiembre de 2018];7. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4335794/>
90. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T, et al. Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. Clin Infect Dis. 15 de junio de 2008;46(12):1813-21.
91. Aapro MS, Bohlius J, Cameron DA, Lago LD, Donnelly JP, Kearney N, et al. 2010 update of EORTC guidelines for the use of granulocyte-colony stimulating factor to reduce the incidence of chemotherapy-induced febrile neutropenia in adult patients with lymphoproliferative disorders and solid tumours. Eur J Cancer. 1 de enero de 2011;47(1):8-32.
92. Cantón E, Viudes Á, Pemán J. Infección sistémica nosocomial por levaduras. :5.
93. Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Epidemiology and Outcomes of Candidemia in 2019 Patients: Data from the Prospective Antifungal Therapy Alliance Registry. Clin Infect Dis. 15 de junio de 2009;48(12):1695-703.
94. Leroy G, Lambiotte F, Thévenin D, Lemaire C, Parmentier E, Devos P, et al. Evaluation of «*Candida* score» in critically ill patients: a prospective, multicenter, observational, cohort study. Ann Intensive Care. 2011;1(1):50.
95. Mikulska M, Calandra T, Sanguinetti M, Poulain D, Viscoli C, the Third European Conference on Infections in Leukemia Group. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia. Crit Care. 2010;14(6):R222.
96. Sendid B, Caillot D, Baccouch-Humbert B, Klingspor L, Grandjean M, Bonnin A, et al. Contribution of the Platelia *Candida*-Specific Antibody and Antigen Tests to Early Diagnosis of Systemic *Candida tropicalis* Infection in Neutropenic Adults. J Clin Microbiol. 1 de octubre de 2003;41(10):4551-8.
97. SENDID B, POIROT JL, TABOURET M, BONNIN A, CAILLOT D, CAMUS D, et al. Combined detection of mannanaemia and anti-mannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infection caused by pathogenic *Candida* species. J Med Microbiol. 2002;51(5):433-42.
98. Alam FF, Mustafa AS, Khan ZU. Comparative evaluation of (1, 3)- β -D-glucan, mannan and anti-mannan antibodies, and *Candida* species-specific snPCR in patients with candidemia. BMC Infect Dis [Internet]. diciembre de 2007 [citado 9 de agosto de 2018];7(1). Disponible en: <http://bmcinfectedis.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2334-7-103>
99. The Cava Trem Study Group, León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Castro C, Loza A, et al. Contribution of *Candida* biomarkers and DNA detection for the diagnosis of invasive candidiasis in ICU patients with severe abdominal conditions. Crit Care

[Internet]. diciembre de 2016 [citado 19 de septiembre de 2018];20(1). Disponible en: <http://ccforum.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13054-016-1324-3>

100. Martínez-Jiménez MC, Muñoz P, Valerio M, Vena A, Guinea J, Bouza E. Combination of *Candida* biomarkers in patients receiving empirical antifungal therapy in a Spanish tertiary hospital: a potential role in reducing the duration of treatment. J Antimicrob Chemother. 1 de noviembre de 2015;70(11):3107-15.

101. Bailly S, Leroy O, Montravers P, Constantin J-M, Dupont H, Guillemot D, et al. Antifungal de-escalation was not associated with adverse outcome in critically ill patients treated for invasive candidiasis: post hoc analyses of the AmarCAND2 study data. Intensive Care Med. 1 de noviembre de 2015;41(11):1931-40.

ANEXOS

Anexo 1. Hoja de Recolección de Datos

[illegible]

Anexo 2. Consentimiento informado

Consentimiento informado Validación de índices de predicción y uso de biomarcadores serológicos para el diagnóstico de la *candidiasis invasora* (CI) para el paciente críticamente enfermo

En calidad de usuario, representante legal o familiar que ejerza como tal, autorizo mi participación en el presente proyecto de investigación que tiene por objetivo evaluar la rentabilidad diagnóstica del uso de marcadores de predicción de *candidiasis invasora* (CI) en pacientes de Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) mediante la evaluación de marcadores serológicos (Antígeno Manano y Anticuerpos Anti-manano) y cultivos micológicos. Se me ha explicado que la participación en dicho estudio consistirá en el permiso para la toma seriada de sangre total a partir del quinto día de estancia en UCI y en adelante cada tercer día hasta el egreso, junto con muestras de especímenes clínicos para cultivos micológicos (orina e hisopados).

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes:

- Riesgos y molestias; Aquellas que se puedan generar durante el procedimiento en la toma de la muestra. Los riesgos relacionados con la punción venosa son leves: Sangrado moderado (dependiendo de la condición clínica del paciente), o sensación de mareo, hematoma (acumulación de sangre debajo de la piel) e infección (un riesgo leve en cualquier momento que se presente ruptura de la piel. Cabe aclarar que las muestras serán tomadas por personal de UCI altamente entrenado en paciente crítico. Los riesgos relacionados con la toma de hisopados son leves considerando una ligera molestia en el momento de la toma de la muestra.
- Beneficios: Estudios adicionales a los requeridos que pueden ayudar a la toma de decisiones terapéuticas que no conllevarán a costos adicionales.

La interpretación de los resultados y el manejo clínico del paciente no son pertinencia de esta investigación.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme o retirar mis muestras biológicas del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en la Fundación Hospital San Pedro. Así mismo, se me ha informado que el investigador principal se ha comprometido a responder cualquier pregunta y aclarar las dudas que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación.

El investigador principal ha dado seguridad de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma absolutamente confidencial.

Datos de la investigadora principal a los cuales puede comunicarse en caso de dudas o preguntas relacionadas con el estudio: Bacterióloga: Elina Paredes Díaz, Laboratorio Clínico Fundación Hospital San Pedro de la ciudad de Pasto teléfono 7336000 Ext.125 Así mismo, Dr. Jorge Martínez Coordinador Unidad de Cuidados Intensivos 7336000 Ext. 202. En caso de tener dudas acerca de este protocolo de investigación puede solicitar información al Comité de Ética en Investigación Hospital San Pedro con la Doctora Janeth Rubiano soto presidente del comité al teléfono 736600 Ext.394.

Paciente: _____ Testigo _____

Fecha: _____

Anexo 3. Procedimiento de detección de Antígeno Manano de *Candida* spp. BioRad

PLATELIA *Candida* Ag Plus

Procedimiento para la detección de Antígeno Manano de <i>Candida</i> spp. BioRad PLATELIA <i>Candida</i> Ag Plus	
1.	Pretratamiento de la muestra con EDTA en presencia de calor
2.	Distribuir 100 µl de sobrenadante de muestra en la microplaca y añadir 100 µl del conjugado
3.	Cubrir la microplaca con película adhesiva e incubar a 37°C (±1 °C) en incubadora seca durante 90 ± 10 minutos.
4.	Lavar la microplaca 5 veces con solución de lavado
5.	Añadir 200 µl del cromógeno en cada pocillo
6.	Incubar la microplaca en oscuridad a temperatura ambiente (+18-30 °C) durante 30 ± 5 minutos
7.	Añadir 100 µl de solución de parada en cada pocillo
8.	Lectura de la densidad óptica con un espectrofotómetro regulado a 450 nm

Anexo 4. Procedimiento de detección de Anticuerpo Anti-Manano de *Candida* spp.

BioRad PLATELIA *Candida* Ab Plus

Procedimiento para la detección de Anticuerpo Anti-Manano de <i>Candida</i> spp	
BioRad PLATELIA <i>Candida</i> Ag Plus	
1.	Predilución de la muestra 10 µl de suero + 190 µl de diluyente de muestra 1
2.	Distribuir 190 µl del diluyente de muestra 2 en los pocillos y añadir 10 µl de las muestras pre diluidas, mezclando cuidadosamente mediante aspiración 3 veces
3.	Cubrir la microplaca con película adhesiva e incubar a 37°C (± 1°C) en incubadora seca durante 60 ± 5 minutos
4.	Lavar la microplaca 4 veces con solución de lavado
5.	Añadir 200 µl del conjugado en cada pocillo
6.	Cubrir la microplaca con película adhesiva e incubar a 37 (± 1 °C) en incubadora secar durante 60 minutos ± 5 minutos
7.	Lavar la microplaca 4 veces en solución de lavado
8	Añadir 200 µl del cromógeno en cada pocillo
9.	Incubar la microplaca en oscuridad a temperatura ambiente (+18-30 °C) durante 30 ± 5 minutos
10.	Añadir 100 µl de solución de parada en cada pocillo
11.	Lectura de la densidad óptica en un espectrofotómetro regulado a 450 nm