

11237

2ej

203



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina
División de Estudios de Postgrado
Secretaría de Salud
Instituto Nacional de Pediatría

DIAGNOSTICO DE CANDIDOSIS SISTEMICA
EN NIÑOS MEDIANTE DETERMINACION DE
ANTIGENOS CIRCULANTES POR METODO
DE ELISA

T E S I S
para obtener el Diploma de especialistas en
PEDIATRIA MEDICA
Q u e p r e s e n t a n
Dra. Amparo Plata García
Dra. Norma Araceli López Facundo



INP México, D. F.

1998

266330

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

HOJA DE APROBACION



[Handwritten signature]

DR SILVESTRE FRENK FREUND

DIRECTOR GENERAL Y PROFESOR DEL CURSO

[Handwritten signature]

DR ERNESTO DIAZ DEL CASTILLO CALZADA

SUBDIRECTOR DE ENSEÑANZA

[Handwritten signature]

DR. LUIS HESHIKI NAKANDAKARI

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE ESEÑANZA DE

PRE Y POSTGRADO

[Handwritten signature]

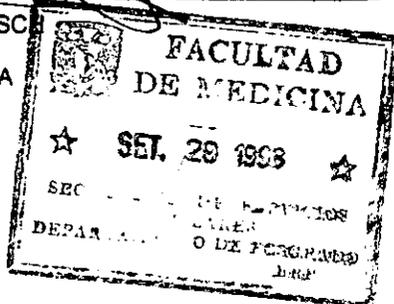
DR RÜBEN ALVAREZ CHACON

TUTOR DE LA TESIS

[Handwritten signature]

ING JOSE ENIS PABLOS HASC

ASESOR DE ESTADISTICA



DIAGNOSTICO DE CANDIDOSIS SISTEMICA EN NIÑOS MEDIANTE LA DETECCION DE ANTIGENOS CIRCULANTES DE CANDIDA POR METODO DE ELISA

Dra. Amparo Plata García, Dra Norma Araceli López Facundo , Dr Rubén Alvarez Chacón, Dr Manuel Wong Chio, QFB Mónica Mirabal García, Ing José Luis Pablos Hasch. Departamento de Parasitología. Instituto Nacional de Pediatría, México D.F.

RESUMEN:

DISEÑO: Es un estudio retrospectivo, transversal, descriptivo y observacional.

SITIO Y FECHA DE RELIZACION : Departamento de Parasitología, Instituto Nacional de Pediatría, Secretaría de Salud, México, Octubre de 1996 a marzo de 1997.

OBJETIVOS:

1. Conocer si existe una asociación entre la detección de antígenos circulantes de *Candida* mediante el método de ELISA con el hemocultivo

2. Conocer el perfil clínico de los pacientes con diagnóstico de Candidosis sistémica

MATERIAL Y MÉTODOS: Se incluyeron los pacientes a quienes se realizó ELISA y hemocultivo en el departamento de Parasitología del Instituto Nacional de Pediatría, como método diagnóstico para candidosis sistémica, en el período comprendido entre enero de 1992 y julio de 1996. Se analizaron los expedientes clínicos de 115 pacientes, de los servicios de Oncología, Hematología, Inmunología, Terapia Intensiva, Infectología y Gastronomía.

VARIABLES DE INTERES: Edad, sexo, padecimiento de base, estado inmunológico, estado nutricional, antecedentes de cirugía mayor reciente, trasplante de órganos, factores de riesgo conocidos como infección severa concomitante, estancia intrahospitalaria prolongada, antibioterapia por tiempo prolongado, fiebre y plaquetopenia persistente, lesiones dérmicas o mucosas sugestivas de candidosis, resultados de ELISA y Hemocultivo.

ANALISIS ESTADISTICO : Se presentará como estadísticas descriptivas de media y desviación estándar para las variables de interés que así lo ameriten, así como la proporción de casos positivos, con error estándar de la proporción, además de la sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA con respecto al hemocultivo, de acuerdo a Feinstein.

RESULTADOS: Se encontró en los pacientes estudiados, edad de 20 días a 17 años, con una media de 4.8+ desviación estándar, 54% del sexo masculino, 46 % femeninos, con el siguiente perfil clínico : padecimiento de base: Leucemia 14%, tumores sólidos 29%, inmunológico 2%, infeccioso 39%, otros padecimientos 24 %, presencia de fiebre persistente en todos los pacientes estudiados, lesiones dérmicas sugestivas de candidosis en 48%, plaquetopenia persistente en 27% , y con factores de riesgo conocidos tales como desnutrición en 42%, inmunosupresión 44%, uso de antimicrobianos por tiempo prolongado y estancia intrahospitalaria prolongada en todos los pacientes, siendo la duración de ésta última 16 a 187 días con una media de 48 días antecedente de trasplante de órganos en dos pacientes, infección severa concomitante en 99%, monitoreo invasivo en 100% de los pacientes, 94% de los pacientes con catéter venoso, resultado de hemocultivo positivo en 11 pacientes, ELISA positivo en 12, ambos positivos en 6 pacientes, con una sensibilidad de 54% y especificidad de 94% de ELISA con respecto al hemocultivo.

CONCLUSIONES: El diagnóstico de candidosis sistémica resulta difícil de establecer a pesar de nuevos métodos de diagnóstico como la detección de antígenos mediante ELISA. La clínica continúa siendo la base insustituible para el diagnóstico de candidosis, el hemocultivo es hasta el momento el método más específico para corroborar dicho diagnóstico.

ANTECEDENTES

La candidosis sistémica es una infección micótica de tipo endógeno producida por varias especies del género *Candida*. De éstas, *Candida albicans* serotipos A y B representa el 70% y otras especies como *Candida kruseii*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* y *Candida guillemondii*, representan el 30% restante (1,2). Se encuentra *Candida* como germen saprófito en piel y mucosas y ocasiona infección y diseminación en pacientes considerados de alto riesgo, como son los pacientes inmunocomprometidos, desnutridos, con padecimientos oncológicos, hematológicos, inmunológicos, así como pacientes críticamente enfermos, con antecedentes de administración de antimicrobianos de amplio espectro por tiempo prolongado, cirugía mayor, de trasplante de órganos, infecciones graves, bacterianas o virales, además de otros padecimientos que ameritan monitoreo con métodos invasivos (catéteres arteriales, venosos orotraqueales, centrales, de permanencia, etc.) (1-5). Representa una de las mayores causas de morbilidad en dichos pacientes y ocupa un lugar muy importante dentro de las infecciones nosocomiales (6,7).

Todos los estudios realizados desde 1990 coinciden en que el diagnóstico de candidosis sistémica resulta difícil de establecer debido a que los síntomas y signos son inespecíficos, por lo que se requiere el aislamiento de *Candida* en hemocultivos o la identificación de las diferentes formas de la misma en tejidos simples mediante pruebas histológicas como PAS (Periodic acid Schiff) y methenamina de plata de Gomori (GMS) o pruebas de inmunohistoquímica con anticuerpos monoclonales para la detección de *Candida* en tejidos y establecer el diagnóstico, tales pruebas no son posibles de realizar en estos pacientes debido a su estado clínico, por lo que son tratados en forma empírica con antimicóticos sistémicos (2-3).

En búsqueda de métodos prácticos para establecer el diagnóstico de candidosis sistémica se han realizado diferentes estudios con pruebas serológicas que detectan en sangre la presencia de determinantes antigénicos, de anticuerpos, enzimas o de metabolitos producidos por *Candida* mediante diversos métodos auxiliares.

Bernardis y Girmenia en 1993 describen la detección de un determinante antigénico producido por la mayoría de las especies de *Candida* denominado MANNAN (Major Cell Wall Polysaccharide of *Candida*) mediante método de ELISA (Enzyme Linked Immunoabsorbent Assay) y mediante el uso de anticuerpos monoclonales con una sensibilidad y especificidad aproximada de 67% y 93% respectivamente (2).

Morhart en 1994 describe la detección de antígeno citoplasmático mediante ensayo inmunoenzimático con especificidad de 82% y sensibilidad de 100% y menciona que existe una disminución de la respuesta inflamatoria cuando el número de neutrófilos se encuentra disminuido o se ha administrado previamente anfotericina B ocasionando disminución de la liberación de antígenos y por lo tanto de la exposición de determinantes antigénicos en suero lo cual puede ser una limitante para la interpretación de los resultados en estos estudios (3).

Klings y cols en 1995 describen la determinación de IgA contra MANNAN mediante ELISA, IgM mediante hemaglutinación pasiva y determinación de IgG por Contrainmunolectroforesis en pacientes con trasplante hepático, obteniendo una sensibilidad y especificidad en rango de 78 a 100% (4).

Se ha descrito además la medición de enzimas secretadas por varias especies de *Candida* por método de ELISA, principalmente proteinasa aspártica, determinante antigénico de *Candida* (8), también se han realizado determinaciones de ENOLASA, mediante los métodos de ELISA y por contrainmunolectroforesis (CIEF) encontrando una sensibilidad de 50% y especificidad de 86% en pacientes inmunocompetentes,

comparado con una sensibilidad de 53% y especificidad de 78% en pacientes inmunodeficientes (10).

Asimismo se ha realizado la determinación en sangre de metabolitos producidos por *Candida* usando una técnica de cromatografía de gas líquido en la cual se ha tenido como limitante principal el que se requiere de un equipo especializado y costoso, (10,11). Asimismo, Lorson describe la determinación de D-arabinitol/ L-arabinitol en orina mediante este mismo método (12). Swtchenko ha determinado la presencia de este mismo metabolito, D-arabinitol, mediante un método enzimático automatizado usando una deshidrogenasa, la cual es producida por varias especies de *Candida* (13). Un método enzimático menos específico para *Candida*, pero que determina la presencia de hongos es la medición de 1-3 Beta-D glucano mediante la coagulasa G. (14).

Se ha descrito la determinación de dos proteínas que son antígenos de la pared celular, una de alto peso molecular y otra de bajo peso molecular, mediante Western-Blotting, sin embargo, a pesar de un alto nivel de anticuerpos contra las proteínas de alto peso molecular, algunos pacientes no presentan reacción contra las proteínas de bajo peso molecular o pierden su reactividad durante el transcurso de la enfermedad, por lo que no es útil en pacientes con compromiso inmunológico como se había mencionado anteriormente (15).

Una prueba de mayor especificidad y sensibilidad es la detección de una secuencia génica conservada por la mayoría de las especies de *Candida* medida mediante PCR (Polimerase Chain Reaction), este método es además específico para valorar la evolución de la candidosis y la respuesta al tratamiento, sin presentar la limitante del estado inmunológico del paciente para su detección, encontrándose positiva en aproximadamente 78% de los casos que contaron con hemocultivos positivos.(16-18).

Existen estudios que comparan la efectividad de las pruebas serológicas en el diagnóstico de candidosis sistémica, como el estudio realizado por Chakrabarti en 1994,

quien define la medición de anticuerpos contra el antígeno 47KD mediante Western-blot como el mejor método, con una sensibilidad del 82.4% y especificidad del 86.7%, con un valor predictivo de positividad del 77.8%, comparado con un valor predictivo de 70% mediante hemaglutinación, todos estos estudios fueron realizados en pacientes considerados de alto riesgo, sin embargo no se describe el perfil clínico de los mismos.(19).

Gutiérrez en 1994 realizó un estudio con 80 pacientes, a los cuales dividió en 4 grupos, el primer grupo con diagnóstico de sepsis por *Candida* evidenciada por tres hemocultivos positivos, el segundo grupo de 30 pacientes colonizados por *Candida*, definiéndose ésta como presencia de lesiones producidas por *Candida* en mucosas sin evidencia de diseminación, el tercer grupo de 20 pacientes con bacteremia sin evidencia de infección por *Candida*, y el cuarto grupo de 20 pacientes sin evidencia de infección clínica ni microbiológica; a todos los pacientes se les tomaron dos muestras en tiempos diferentes y se realizaron diferentes pruebas serológicas para el diagnóstico de Candidosis sistémica, encontrando que la detección de Antígeno citoplasmático 48-KD mediante inmunoensayo, (Directigen M.R.), fue positiva en al menos una de las muestras de los pacientes del primer grupo, excepto en tres, y que fue positiva en 3 pacientes del grupo 4 esto dió como resultado una sensibilidad de 65% y especificidad de 97%, mientras que, cuando se realizó la prueba con partículas de látex conjugados con anticuerpos monoclonales contra antígenos de la pared celular de *Candida* (Pastorex , M.R.), no se encontró ningún resultado positivo, además se realizó la medición de Ig G e Ig M contra blastoconidios de *Candida* con anticuerpos monoclonales marcados con fluoresceína (Bio-Merieux.M.R.). determinando previamente que la presencia de más de 400UI/dl evidencian un resultado positivo, en la mayoría de los pacientes del primer grupo fue positivo, tanto la medición de Ig G como de Ig M, encontrando una sensibilidad de 80 y 100% respectivamente, y una especificidad de 81 y 100 % , con un valor

predictivo negativo de 96 y 100% respectivamente. Sin embargo la interpretación de los resultados es difícil de realizar en pacientes con reinfección. (20).

JUSTIFICACION

Dadas las dificultades para establecer el diagnóstico de candidosis sistémica en niños, es necesario obtener una evidencia de la asociación que existe entre la detección de antígenos circulantes de *Candida* mediante el método de ELISA con el hemocultivo .

Se desconoce la experiencia en el diagnóstico de Candidosis sistémica mediante la determinación de antígenos circulantes de *Candida* por el método de ELISA en el Instituto Nacional de Pediatría .

OBJETIVOS

El objetivo de este estudio es investigar si existe una asociación entre la determinación de antígenos circulantes de *Candida* mediante el Método de ELISA con el aislamiento de la misma en hemocultivos en pacientes en los cuales se realizó el diagnóstico de Candidosis sistémica o se sospechó en ésta, además de conocer el perfil clínico de los pacientes con dicho diagnóstico.

HIPOTESIS

Existe una asociación estadísticamente significativa entre la determinación de antígenos de *Candida* mediante el método de ELISA con la positividad del hemocultivo.

MATERIAL Y METODOS

Se realizó un estudio retrospectivo, transversal, descriptivo y observacional en el cual se estudiaron 115 pacientes de los servicios de Oncología, hematología, inmunología, infectología, terapia intensiva, y gastronomía, a quienes se les realizó determinación de antígenos circulantes de *Candida* y hemocultivo en el Departamento de Parasitología del Instituto Nacional de Pediatría como método auxiliar en el diagnóstico de Candidosis Sistémica, en el periodo comprendido de enero de 1992 a septiembre de 1996.

Se realizó una revisión de los expedientes clínicos de dichos pacientes, con enfoque al periodo de hospitalización durante el cual se realizaron tales pruebas, independientemente de la fecha del diagnóstico de su patología de base.

Con la finalidad de establecer un perfil clínico se evaluaron además las siguientes variables independientes: edad, sexo, padecimiento de base y la presencia de las siguientes

variables :

Fiebre persistente: definiéndose como fiebre persistente la presencia de temperatura mayor o igual a 38 grados centígrados en 3 o más determinaciones durante un mínimo de 48 horas.

Plaquetopenia persistente : Conteo de plaquetas menor de 100mil en dos o más determinaciones realizadas en un mínimo de 48 horas.

Lesiones dérmicas o en mucosas sugestivas de candidosis: presencia de placas blanquesinas cotonosas desprendibles con borde eritematoso y friable, localizadas en la mucosa oral o vaginal, además de áreas eritematosas con descamación leve, localizadas en los pliegues o en sitios de punción.

Uso prolongado de antimicrobianos de amplio espectro: uso de antimicrobianos conocidos de amplio espectro, durante un periodo mayor a 14 días en forma continua, ya sea en doble o triple esquema.

Estancia intrahospitalaria prolongada: internamiento mayor a 14 días en forma continua, independientemente del servicio tratante.

Cirugía mayor reciente : Cirugía cardiovascular, abdominal o neurológica realizada en fecha menor a 7 días previos al diagnóstico de candidosis

Trasplante de Organos : pacientes a los cuales se les haya realizado trasplante de médula osea o renal en el mismo año del diagnóstico de candidosis.

Infeción severa bacteriana o viral: cualquier infección catalogada como bacteriana o viral de acuerdo a las características clínicas de ésta misma y que ameriten tratamiento antimicrobiano de amplio espectro y/o monitoreo con técnicas invasivas.

Desnutrición :presencia de signos universales como hipofunción, dilución y atrofia que se traducen en déficit de peso y talla para su edad en relación a las percentilas establecidas.

Inmunosupresión: conteo de leucocitos menor de 5mil , neutrófilos totales menor de 1500 y/o linfocitos menor de 500en una o más determinaciones previas al diagnóstico de candidosis.Primaria cuando es producida por el padecimiento de base per se, y secundaria cuando es explicada por el uso de fármacos utilizados para el tratamiento de su enfermedad de base.

Uso de agentes quimioterapéuticos : de acuerdo a la patología de base se contemplará la administración de esquemas de quimioterapia con fármacos antineoplásicos e inmunosupresores en los 30 días previos al diagnóstico de candidosis.

Uso de técnicas de monitoreo invasivas : presencia de catéteres arteriales o venosos ya sean periféricos o centrales, de permanencia o semipermanencia, así como uso de sondas vesicales, orotraqueales naso u orogástricas y catéterers intraventriculares para medición de presión intracraneana.

Patología de base: refiriéndose como la enfermedad principal del paciente, independientemente del servicio tratante, principalmente padecimientos inmunológicos, hematológicos, oncológicos, infecciosos e independientemente del momento del diagnóstico del mismo.

Estudio serológico: se refiere a la determinación de antígenos circulantes de *Candida* mediante el método de ELISA, realizados en el departamento de Parasitología de este Instituto Nacional de Pediatría, obteniéndose muestras de 3 ml de sangre total que posteriormente fueron centrifugadas para obtener 300 microlitros de suero, el cual fue mezclado con 100 microlitros de reactivo de tratamiento Pastorex

(Sanofi,diagnostics Pasteur). Posteriormente fue calentado hasta ebullición por tres minutos, con la finalidad de extraer los antígenos circulantes independientemente de la cantidad de los mismos, el sobrenadante fue centrifugado a 10 mil gravedades por espacio de 10 minutos y 40 microlitos de este centrifugado se hicieron reaccionar con 10 microlitros de látex previamente sensibilizado con antígenos de Candida y que contiene anticuerpos contra ella, posteriormente se centrifugó nuevamente a 160 revoluciones por minuto durante 10 minutos ; la presencia de aglutinación fue considerada como resultado positivo.

Hemocultivo: Se obtuvieron de 1 a 2ml de sangre venosa en jeringa heparinizada, los cuales fueron sembrados en condiciones de esterilidad en un tubo con medio de cultivo Saburaud y colocados en posición horizontal y conservados a temperatura ambiente (27grados centígrados generalmente), por un mínimo de 14 horas y un máximo de 72 horas, al detectarse por lo menos una unidad formadora de colonias, se realizó examen macroscópico en búsqueda de hifas, lo cual fue considerado como resultado positivo para Candida , cuando éstos no estuvieron presentes, se realizó exámen directo bajo microscopía de luz en búsqueda de levaduras y de pseudomicelios , cuando éstos no estuvieron presentes, se realizó siembra directa de la unidad formadora de colonias en 1 ml de suero y se incubó a 37 grados centígrados durante 2 horas 3 minutos y posteriormente se realizó examen directo bajo microscopía de luz en búsqueda de tubos germinativos, lo cual indica resultado positivo para Candida sp.

CRITERIOS DE INCLUSION

Pacientes de cualquier sexo y edad a los cuales por sospecha de candidosis sistémica en el período comprendido entre enero de 1992 y Julio de 1996 se les realizó determinación de antígenos circulantes de Candida mediante el método de ELISA y hemocultivos , independientemente de su patología de base.

VARIABLES A MEDIR

Edad

Sexo

Patología de base

Edo inmunológico

Características clínicas:

Peso

Talla

Estado Nutricional

Fiebre persistente

Plaquetopenia persistente

Lesiones dérmicas o en mucosas sugestivas de micosis

Factores de riesgo:

Uso de antimicrobianos de amplio espectro por tiempo prolongado

Estancia intrahospitalaria prolongada

Cirugía mayor

Trasplante de órganos

Infección severa

Desnutrición

Inmunosupresión

Uso de agentes quimioterapéuticos

Uso de catéteres venosos, arteriales, vesicales, orotraqueales, centrales, de permanencia.

Hemocultivos.

Estudio serológico realizado (ELISA)

ANALISIS ESTADISTICO DE LA INFORMACIÓN :

El análisis estadístico, consistió en obtener las estadísticas descriptivas de media y desviación estándar para las variables que así lo ameritaron: edad, sexo, estancia intrahospitalaria, monitoreo invasivo con catéter arterial, con catéter venoso central, con catéter vesical, con catéter ventricular y con sonda traqueal, Además se obtuvo la proporción de casos positivos y el error estándar de la proporción en las siguientes variables: Desnutrición, inmunosupresión, fiebre persistente, antibioticoterapia por tiempo prolongado, lesiones dérmicas y mucosas sugestivas de candidosis, padecimiento de base, antecedente de cirugía mayor y trasplante de órganos, infección severa concomitante. De acuerdo a Feinstein (24) se obtuvieron la sensibilidad y especificidad de la prueba de ELISA con respecto al hemocultivo.

ASPECTOS ETICOS Y FINANCIAMIENTO DEL ESTUDIO

Dado que se trató de una revisión de expedientes clínicos no fue necesaria la aprobación de este estudio por parte del Comité de Ética ni fue necesaria la estructuración de una carta de consentimiento informado para participar en el estudio. De igual forma no fue necesaria la aprobación de ningún tipo de financiamiento.

RESULTADOS

Se estudiaron 115 pacientes a quienes se les realizó, como método diagnóstico auxiliar del diagnóstico de Candidosis Sistémica, determinación de antígenos circulantes de Candad por método de ELISA y hemocultivo, .

La edad fluctuó entre 20 días y 17 años, con una media de 4.8 años \pm 0.8 s (Desviación Estándar). 62 pacientes fueron del sexo masculino (54%) y 53 pacientes del sexo femenino (46%).

Se encontró presencia de desnutrición en 49 pacientes (42% \pm ESP error estandar de la proporción: 0.49), 66 pacientes sin desnutrición, (58% \pm 0.29 ESP).

En cuanto al padecimiento de base, lo expresamos en la siguiente tabla:

TABLA 1. PADECIMIENTO DE BASE

PADECIMIENTO DE BASE	No DE PACIENTES	%	ESP
LEUCEMIA	15	14	0.34
TUMOR SOLIDO	23	20	0.44
INMUNOLOGICO	3	2	0.14
INFECCIOSO	34	30	0.53
OTROS	40	34	0.58
TOTAL	115	100	

De los 40 pacientes cuyos padecimientos de base fueron clasificados como Otros, los describimos en la siguiente tabla

TABLA 2 OTROS PADECIMIENTOS

PADECIMIENTO	No de Pacientes	%	ESP
Quirúrgico	17	42	0.79
Neurológico	13	32	0.56
Cardiopatía	8	20	0.16
Genético	2	5	0.22
TOTAL	40	100	

De los padecimientos quirúrgicos encontramos 3 pacientes con quiste de colédoco, 1 con atresia de vías biliares, 6 con defectos de pared abdominal (onfalocele y gastrosquisis), 1 con MARA y divertículo de Meckel, y 4 con hidrocefalia congénita.

De las cardiopatías congénitas encontramos 4 pacientes con PCA y 4 con defectos septales. En los padecimientos Neurológicos encontramos TCE, daño neurológico severo, epilepsia y de las alteraciones genéticas fueron un paciente con síndrome de Down y uno con trisomía 13.

En cuanto a Inmunosupresión se refiere, se encontraron pacientes con anemia aplásica, y otros con tuberculosis diseminada, pacientes infectados con HIV, en ellos se consideró la inmunosupresión como primaria, o debida a su propia patología de base y en los pacientes con inmunosupresión secundaria se encontraron pacientes que recibieron quimioterapia y esteroides como tratamiento para su patología de base. (tabla No 3).

TABLA 3. INMUNOSUPRESION

	No de Pacientes	%	ESP
Sin inmunosupresión	65	56	0.74
Inmunosupresión 1a	11	10	0.3
Inmunosupresión 2a	39	34	0.58
TOTAL	115	100	

En todos los pacientes se encontró fiebre prolongada y antecedente de antibióticoterapia además de monitoreo invasivo y estancia intrahospitalaria prolongada, éstas últimas serán descritas ampliamente en notas posteriores de este mismo estudio.

Una característica de los pacientes con candidosis sistémica que se describe como frecuente en la literatura es la plaquetopenia, la cuál fue detectada solamente en 31 pacientes, (27% \pm 0.51ESP)

Las lesiones dérmicas o en mucosas, sugestivas de candidosis, pueden también se frecuentes e indicar un alto riesgo de candidosis, de los pacientes estudiados se encontraron 55 (48% \pm 0.49 ESP), dichas lesiones fueron de predominio en la mucosa oral y algunas en los pliegues naturales de la piel, así como en región perianal.

El antecedente de cirugía mayor ha sido catalogado como factor de riesgo en el desarrollo de candidosis sistémica, ya que en la mayoría de las veces deriva en un estado crítico . De nuestros pacientes, el 46 % (53pacientes) se intervino quirúrgicamente durante el periodo estudiado en los últimos siete a diez días previos al diagnóstico.(Tabla No 4).

TABLA 4 ANTECEDENTE DE CIRUGIA MAYOR

Tipo de Cirugía	No de Pacientes	%	ESP
Sin cirugía	52	53	0.72
Neurológica	20	18	0.42
Cardiovascular	7	6	0.24
Abdominal	26	26	0.5
Total	115	100	

Entre las cirugías neurológicas se incluyen desde resecciones tumorales y drenaje de absceso a colocación de catéter de PIC en un paciente y ventriculostomía en otro. Las cirugías vasculares fueron cierre de defectos septales y de PCA, las abdominales fueron en su mayoría resecciones intestinales y cierres de defectos de pared.

Solamente estudiamos dos pacientes con antecedente de trasplante de órganos (trasplante renal) debido a insuficiencia renal crónica.

El 95% de los pacientes cursó con infección severa concomitante bacteriana, viral o Mixta (Tabla No 5). De las infecciones virales detectadas y corroboradas por distintos métodos, fueron 2 pacientes con HIV y un paciente con citomegalovirus congénito, la mayoría de las infecciones consideradas como mixtas fueron encontradas en pacientes inmunocomprometidos con varicela más un proceso bacteriano intrahospitalario, previo al diagnóstico de candidosis. (tabla No 5).

TABLA 5. INFECCION SEVERA CONCOMITANTE

	No de Pacientes	%	ESP
Sin Infección	5	4	0.19
Infección bacteriana	93	80	0.89
Infección viral	3	3	0.83
Infección Mixta	14	13	0.86
Total	115	100	

El monitoreo invasivo fue una característica en común de los pacientes estudiados, el catéter venoso central fue el método más usado y el promedio de días de utilización fue el más prolongado, con una media de 13 días, sin tomar en cuenta el caso de un paciente con catéter de permanencia que se infectó a los 120 días de haber sido colocado. (Tabla No 6).

TABLA 6 MONITOREO INVASIVO

Tipo	No Pacientes	%	No días	Media (X)
Catéter arterial	33	28	2-16	5.5
Catéter Venoso central	109	94	3-30	13
Catéter Vesical	98	85	2-18	8
Catéter ventricular	3	3	2-4	3
Sonda traqueal	68	60	1-69	13

Por último, al obtener los resultados de ELISA y Hemocultivo, se determinó la sensibilidad y especificidad del Método de Elisa con respecto al Hemocultivo para el diagnóstico de Candidosis sistémica por el método de Feinstein (25) resultando 0.54 y 0.94, respectivamente. El 10% de los pacientes tuvieron ELISA positivo, el 9.5 % tuvieron Hemocultivo positivo, lográndose aislar en 3 ocasiones *Candida tropicalis* y en 2 *Candida parapsilosis*, en el resto no fue posible determinar la especie; solamente 6 pacientes tuvieron ambos estudios positivos. Cabe mencionar que los pacientes con resultados positivos fueron aquellos que tuvieron positivas la mayoría de las variables, es decir que sí existe una correlación clínica con los resultados del hemocultivo y ELISA . (tabla No 7).

TABLA 7 POSITIVIDAD DE ELISA Y HEMOCULTIVO

No de Pacientes	Hemocultivo positivo	Hemocultivo negativo	total
ELISA positivo	6	6	12(10%)
ELISA negativo	5	98	103(90%)
Total	11(9.5)	104(90.5)	115(100%)

DISCUSION

A pesar de los recientes avances en la búsqueda de mejores métodos de laboratorio auxiliares en el diagnóstico de candidosis sistémica, tales como la cromatografía de gas-líquido y la detección de antígenos de *Candida* por medio de PCR(16) , aún no existen resultados satisfactorios para elegir el mejor método. La detección de antígenos circulantes de *Candida* por Método de ELISA, es uno de los métodos serológicos utilizados, sin embargo, no está bien clara su sensibilidad, ya que se requiere de una función inmunológica competente para producir lisis de la propia *Candida* en tejidos y sangre, y liberación de los determinantes antigénicos, que son componentes de la pared celular. Mohart (3), describe que existe una disminución de la respuesta inflamatoria cuando el número de neutrófilos se encuentra disminuido o se ha administrado previamente anfotericina B, ocasionando una disminución de los determinantes antigénicos y por lo tanto, consideramos que esto puede ser una limitante en la interpretación de los resultados. De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente estudio, consideramos que la hipótesis anterior puede ser aplicada, ya que de los doce pacientes que tuvieron el ELISA positivo, solamente 4 tuvieron inmunosupresión, primaria o secundaria y los otros 8 se consideraron pacientes sin inmunosupresión, el saber si existe o no una diferencia estadísticamente significativa, podría ser objeto de estudios posteriores.

Todos los estudios realizados hasta el momento, coinciden en que el diagnóstico de candidosis es sumamente difícil de establecer, dado que los síntomas y signos son inespecíficos, por lo que se requiere el aislamiento de la *Candida* en hemocultivos o de sus diferentes formas en tejidos simples mediante pruebas de inmunohistoquímica (2-3), dadas las características de los pacientes, que en su mayoría son pacientes en estado crítico, no es posible realizar dichas pruebas por lo que los pacientes son manejados con antimicóticos sistémicos en forma empírica, exponiendo a los pacientes a complicaciones

secundarias al uso de éstos medicamentos, como insuficiencia renal aguda y tubulopatía, etc.

En nuestro estudio observamos que los pacientes que tuvieron el hemocultivo positivo y un mayor número de días de monitoreo con técnicas invasivas. Además, de estos 11 pacientes, 8 tuvieron antecedente de cirugía mayor previa (resección intestinal por tuberculosis peritoneal en 2 pacientes y por enterocolitis en 2, un paciente con gastrosquisis fue sometido a cierre de pared abdominal, otro a descenso sagital posterior por malformación anorectal alta y dos pacientes fueron intervenidos quirúrgicamente por presencia de abscesos cerebrales, los otros tres pacientes que no fueron intervenidos fueron un paciente con HIV positivo, uno con anemia aplásica y uno con PCA, insuficiencia cardíaca y sepsis.

Sabemos que la Candidosis Sistémica, se ha catalogado como una infección oportunista, en pacientes con padecimientos Oncológicos, hematológicos, inmunológicos, sometidos a quimioterapias inmunosupresoras . Nosotros estudiamos 15 pacientes con Leucemia, 23 con tumores sólidos y 3 con padecimientos inmunológicos, de éstos solo se obtuvieron resultados positivos de ELISA o Hemocultivo en 4 pacientes con rabdomyosarcoma.

Por lo anterior, podemos considerar que más que una infección oportunista en pacientes inmunocomprometidos, la Candidosis sistémica es una infección nosocomial, por lo que se requiere de más medidas preventivas sobre todo en los pacientes que son sometidos a cirugías mayores y monitorizados con métodos invasivos.

El 42% de los pacientes (49), presentaron desnutrición en el momento del estudio, de éstos 49, 14 tuvieron positivo el hemocultivo o el ELISA por lo que podemos confirmar lo que se ha descrito en la literatura en cuanto a desnutrición como factor predisponente.

En cuanto a la presencia de fiebre persistente, parece ser el síntoma y signo único, según se ha reportado en la literatura, en el presente estudio, la presencia de ésta fue una variable común para todos los pacientes y la presencia de lesiones dérmicas o en mucosas sugestivas de candidosis, reportada en 55 % (48) de nuestros pacientes, parece ser un signo que apoye el diagnóstico presuntivo de Candidosis. La presencia de plaquetopenia se ha considerado como una característica que no es constante en los pacientes con candidosis, nosotros encontramos la misma en 21 pacientes (48%) . Cabe mencionar que el 70% de los pacientes con resultados positivos tuvieron éstas variables positivas.

CONCLUSIONES

Estamos de acuerdo con lo descrito en la literatura acerca de la dificultad que representa el establecer un diagnóstico de certeza en los pacientes con sospecha de candidosis y de la necesidad de métodos serológicos más sensibles y específicos que la determinación de antígenos circulantes de *Candida* mediante el método de ELISA para establecer el diagnóstico de Candidosis sistémica.

El hemocultivo sigue siendo el método más específico para el diagnóstico de Candidosis, además de la identificación directa en tejidos profundos.

La fiebre persistente como único síntoma y la presencia de lesiones dérmicas o en mucosas sugestivas de candidosis, aunado a la consideración de los antecedentes del paciente parecen ser la parte más importante para establecer el diagnóstico de Candidosis sistémica.

En el Instituto Nacional de Pediatría realizamos en forma clínica el diagnóstico de candidosis sistémica, por lo que se debe valorar el riesgo-beneficio al exponer a los pacientes a los riesgos que conlleva el uso de antimicóticos sistémicos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Sandin R, Meier C. Current Isolation of *Candida krusei* and *Candida tropicalis* from multiple blood cultures in a patient with acute leukemia .
Arch Pathol Lab Med 1993;117; 521-23.
2. Bernardis F, Girmenia C .Use of a monoclonal antibody in a Dot immunobinding assay for detection of a circulating mannoprotein of *Candida* in neutropenic patients with invasive candidiasis .
J Microbiol 1993;31:3142-6.
3. Morhart M, Rennie R . Evaluation of enzyme Immunoassay for *Candida* Cytoplasmic antigens in neutropenic cancer patients .
J Clin Microbiol 1994; 32 : 766-76.
4. Klingspor L, Stintzing G. Deep *Candida* infection in child liver trasplant recipients : serological diagnosis and incidence .
Acta Paediatr 1995; 84:424-8.
5. Rantala A, Nininkoski J. Early *Candida* Isolations in febrile patients after abdominal surgery. Scand J Infect Dis 1993; 25: 479-85.
6. Jarvis R . Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis of *Candida* species. Clin Infect Dis 1995 ; 20: 1526-30.
7. Monteagudo C, Marcilla A . Specific immunohistochemical identification of *Candida albicans* in paraffin-embedded tissue with a new monoclonal antibody 1B12). Am J Clin Pathol 1995; 103:130-5.
8. Rebolli A . Diagnosis of Invasive candidiasis by a dot immunobinding assay for *Candida* antigen detection. J Clin Microbiol 1993; 31: 518-23.
9. Deventer A.J. Vliet HJ, .Diagnostic value of anti-candida enolase antibodies. J Clin Microbiol 1994;2 :17-23.
10. Borg Von Zepelin, GrünessV. Charectarization of two monoclonal antibo-dies against secretory proteinase of *Candida tropicalis* DSM 4238.
J Med and Vet Mycol 1993 ;31: 1-15.
11. Mc Sharry, Lewis C, . Measurement of serum arabinitol by gas-liquid cro-matography : limitations for detection of systemic candida infections.
J Clin Pathol 1993;46:475-6.
12. Larsson L, Pherson C. Gas chromatographic determination of D-arabinitol/L-arabinitol ratios in urine: a potential method for diagnosis of disseminated candidiasis. J Clin Microbiol 1994; 32 :1855-9.

13. Switchenko A, Garret M. An automated enzymatic method for measurement of D-Arabinitol, a Metabolite of Pathogenic Candida species. *J Clin Microbiol* 1994; 32 :92-7.
14. Obayashi T, Yoshida M, . Plasma (1-3) B-D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and fungal febrile episodes. *Lancet* 1995;345:17-20.
15. Hernando F, Caillez J . Qualitative and quantitative differences in recognition patterns of Candida albicans protin and polysaccharide antigens by human sera. *J Med and Vet Mycol* 1993 ; 31:219-26.
16. Kan V. Polymerase Chain Reaction for the diagnosis of candidemia. *J Infect Dis* 1993; 168:779-83.
17. Holmes Ann R. Cannon R. . Detection of Candida albicans and other yeast in blood by PCR. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 228-31.
18. Rand K, Houck H . Detection of candidemia by polymerase chain reaction. *Molecular and Cellular probes* 1994;8:215-22.
19. Chakrabati A. Roy P. .Evaluation of trhee serological test for detection of anti-candidal antibodies in diagnosis of invasive candidiasis. *Mycopathol* 1994;126:3-7.
20. Gutiérrez J, Maroto C. Circulating Candida antigens and antibodies: useful markers of candidemia. *J Clin Microbiol* 1993 ; 31 :2550-2.
21. Sosa de Martínez MC, Pablos Hach JL. Guía para elaborar el protocolo de investigación Primera Parte. *Acta Ped Mex* 1994;15 : 9-14.
22. Dixon J, Brown M. Biomedical Computers Programs , D-Series (BMPD), Berkley, Calif: Univ Of California Press 1979.
22. Feinstein A. R. Clinical Biostatistic. *Clin Pharmacol, Ther* 1975. 17:104.

**DETECCION DE ANTIGENOS CIRCULANTES DE *CANDIDA* POR METODO DE
ELISA EN EL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRIA**

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

- 1.- No folio _____
- 2.Registro _____
- 3 EDAD _____
4. Sexo : 0 Masculino,1 Femenino _____
5. Peso _____
6. Talla _____
7. Desnutrición 0 :No 1 : Si _____
- 8.Padecimiento de Base: 0 Leucemia _____
- 1.Tumor Sólido
2. Inmunológico
- 3.Infeccioso
4. Otros
9. Inmunosupresión. 0. Primaria _____
1. Secundaria
10. Fiebre Persistente 0 No 1 Si _____
- 11.Plaquetopenia persistente
0. No 1 Si _____
12. Lesiones Dérmicas o mucosas sugestivas de Candidosis
- 0.No 1 Si _____

13. Uso de antimicrobianos de amplio espectro por tiempo prolongado

0 No 1 Si

14 Estancia intrahospitalaria Prolongada

0 No 1 Si

No de Días

15 Antecedente de Cirugía Mayor

0. Ninguna

1. Neurológica

2. Cardiovascular

3. Abdominal

16 Trasplante de Organos 0. Ninguno

1. Trasplante Renal

2. Trasplante de Médula Osea

17. Infección Severa 0. No

1. Bacteriana

2. Viral

3. Ambas

18. Monitoreo Invasivo por cateter arterial o. No No de Días

19. Monitoreo Invasivo por Catéter venoso central 0. No No de Días

20. Monitoero Invasivo por catéter vesical 0.No No de Días

21. Monitoreo Invasivo por catéter Ventricular 0.No No de Días

22. Monitoreo Invasivo por sonda traqueal 0. No No de días

23..ELISA 0 Positivo 1 Negativo

24. Hemocultivo 0 Positivo 1 Negativo
