



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA**

**UMAE HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI**

CURSO UNIVERSITARIO DE ESPECIALIZACIÓN EN PATOLOGÍA CLÍNICA

**"FRECUENCIA DE CANDIDOSIS INVASIVA EN PACIENTES DE UNIDADES DE CUIDADOS
INTENSIVOS DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, IMSS"**

PRESENTA:

DR. EMILIO FRANCISCO ESTEBAN CISNEROS
MÉDICO RESIDENTE DE TERCER AÑO DE LA ESPECIALIDAD DE PATOLOGÍA CLÍNICA
U.M.A.E. HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA
CMN SIGLO XXI, IMSS

PARA OBTENER EL DIPLOMA DE ESPECIALISTA EN PATOLOGÍA CLÍNICA

DIRECTOR DE TESIS
DR. LUIS JAVIER MÉNDEZ TOVAR
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN EN DERMATOLOGÍA Y MICOLOGÍA MÉDICA
U.M.A.E. HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPÚLVEDA" CMN
SIGLO XXI, IMSS



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 FIRMAS

"FRECUENCIA DE CANDIDOSIS INVASIVA EN PACIENTES DE UNIDADES DE CUIDADOS INTENSIVOS DEL CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI, IMSS"

Dr. Moisés CALDERÓN ABBO

Director General

U.M.A.E. Hospital de Cardiología, CMN Siglo XXI, IMSS

Dr. Jesús Salvador VALENCIA SÁNCHEZ Director

de Educación e Investigación en Salud U.M.A.E.

Hospital de Cardiología, CMN SXXI, IMSS

Dra. Noemí Patricia CASTILLO TORRES

Profesor Titular del Curso de Postgrado de la Especialidad de Patología Clínica

U.M.A.E. Hospital de Cardiología, CMN SXXI, IMSS

Dr. Luis Javier MÉNDEZ TOVAR

Director de Tesis

Laboratorio de Investigación Médica en Dermatología y Micología

U.M.A.E. Hospital de Especialidades "Dr. Bernardo Sepúlveda"

CMN SXXI, IMSS

AGRADECIMIENTOS

- Laboratorios Bio-Rad® México, por haber proporcionado gratuitamente los kits para los estudios inmunológicos.

- Q. Israel Silva del Laboratorio Central del Hospital de Especialidades, por su apoyo y consejo en la realización de los estudios micológicos, pero sobre todo por su amistad.

- Personal de la Unidad de Investigación Biomédica en Inmunobioquímica del Hospital de Especialidades, por el apoyo y consejo en la realización de los estudios inmunológicos.

- Personal del Laboratorio Central del Hospital de Cardiología, por el interés y apoyo en la realización del protocolo.

DEDICATORIAS

- A mis padres y hermanos, por el ejemplo y la felicidad que todos los días me brindan .
- Al Dr. Luis Javier Méndez Tovar, por su atención y paciencia.
- A mis compañeros residentes, por haberme brindado su amistad y haber transformado estos tres años en una gran experiencia.

ABREVIATURAS

CVC	Catéter venoso central
DO	Densidad óptica
EDTA	Ácido etileno diamino tetracético
EIA	Inmunoensayo enzimático
ELISA	Ensayo inmunoabsorbente enzimático
HC CMN SXXI	Hospital de Cardiología Centro Médico Nacional Siglo XXI
HE CMN SXXI	Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI
IBP	Inhibidor de la bomba de protones
ITS	Infección del torrente sanguíneo
LBA	Lavado bronquio-alveolar
NPT	Nutrición parenteral
RR	Riesgo relativo
UCI	Unidad de cuidados intensivos

ÍNDICE DE CUADROS E IMÁGENES

CUADROS

Cuadro 1	5
Cuadro 2	6
Cuadro 3	7
Cuadro 4	8
Cuadro 5	9
Cuadro 6	9
Cuadro 7	40
Cuadro 8	41
Cuadro 9	41

IMÁGENES

Imagen 1	10
Imagen 2	31
Imagen 3	32
Imagen 4	32
Imagen 5	33
Imagen 6	34
Imagen 7	35
Imagen 8	35
Imagen 9	36
Imagen 10	37
Imagen 11	38
Imagen 12	38
Imagen 13	39

CONTENIDO

HOJA DE FIRMAS.....	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
DEDICATORIAS	vi
ABREVIATURAS	v
ÍNDICE DE CUADROS E IMÁGENES	vi
CONTENIDO	vii
ÍNDICE.....	ix

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN	4
2.1. <i>CLASIFICACIÓN DE LAS MICOSIS</i>	5
2.1.1. Micosis superficiales.....	5
2.1.2. Micosis subcutáneas.....	6
2.1.3. Micosis sistémicas	7
2.1.4. Micosis oportunistas invasivas	8
2.2. CANDIDOSIS.....	10
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	19
4. JUSTIFICACIÓN	19
5. HIPÓTESIS	20
6. OBJETIVOS	20
7. MATERIAL Y MÉTODOS.....	21
7.1. <i>UNIVERSO DE TRABAJO</i>	21
7.1.1. Criterios de inclusión	21
7.1.2. Criterios de exclusión	21
7.2. <i>PROCEDIMIENTOS</i>	22
7.2.1. Especímenes	22
7.2.2. Visualización, cultivo e identificación de hongos	22
7.2.3. Detección de antígeno.....	24
7.2.4. Equipos utilizados	27
7.2.5. Instalaciones	28
7.3. <i>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</i>	29
8. RESULTADOS.....	30
8.1. <i>ANÁLISIS DE FRECUENCIA EN HC</i>	30
8.2. <i>ANÁLISIS DE FRECUENCIA EN HE</i>	33
8.3. <i>ANÁLISIS DE FRECUENCIA EN AMBOS HOSPITALES</i>	36
8.4. <i>RIESGO RELATIVO</i>	39
8.5. <i>DESEMPEÑO DE EQUIPOS INMUNOLÓGICOS</i>	39

8.6. <i>CONCORDANCIA ENTRE ESTUDIOS MICROBIOLÓGICOS E INMUNOLÓGICOS</i>	48
8.7. <i>IMÁGENES OBTENIDAS</i>	49
9. DISCUSIÓN	42
10. CONCLUSIONES.....	45
11. ANEXOS.....	46
12. BIBLIOGRAFÍA	47

1. RESUMEN

INTRODUCCIÓN:

Las micosis oportunistas invasivas son aquellas que se presentan fundamentalmente en hospederos inmunosuprimidos con disfunción de varios de los mecanismos de defensa. Estas, han aumentado considerablemente en los últimos años debido a varios factores como el aumento gradual en los factores de oportunidad como la inmunosupresión favorecida por cirugías, trasplantes, citostáticos, diabetes, obesidad y la infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH). En el Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI (HE CMN SXXI), se atienden gran número de pacientes que desarrollan Fiebre de Origen Desconocido (FOD), pero como ocurre en el resto del país, se ignora la importancia de las micosis en la etiología de este síndrome.

JUSTIFICACIÓN:

Actualmente, no existen datos formales sobre la FOD asociada a micosis invasivas en la Unidad Médica de Alta Especialidad (UMAЕ), Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional Siglo XXI, y suponemos que son sub-diagnosticadas, debido a que el diagnóstico se realiza en base a la observación y aislamiento de los agentes, procedimientos que en muchas ocasiones no es posible realizar en estos pacientes, actualmente en el diagnóstico tampoco se incluyen pruebas serológicas de alta especificidad y sensibilidad.

OBJETIVOS:

Objetivo General

- Conocer la prevalencia de las infecciones micóticas invasivas como causa de fiebre de origen desconocido en pacientes inmunosuprimidos del HE CMN SXXI.

Objetivos Específicos

- Conocer la prevalencia de candidosis, aspergilosis, criptococosis y neumocistosis en pacientes inmunosuprimidos con FOD.
- Establecer concordancia entre los estudios de visualización y aislamiento de hongos en pacientes con FOD y las pruebas de detección inmunológicas que se emplearán en ésta investigación, con el fin de determinar el desempeño de los estudios inmunológicos como auxiliares diagnósticos.

HIPÓTESIS:

La principal causa de FOD en el HE CMN SXXI será *Candida* spp. y otras infecciones fúngicas como aspergilosis y criptococosis, tendrán menos frecuencia.

MATERIAL Y MÉTODOS:

El estudio se realizó en especímenes de pacientes inmunosuprimidos con FOD de diversos servicios. Al material obtenido, se le realizaron estudios de detección microscópica, aislamiento y pruebas inmunológicas con el fin de detectar la presencia de hongos o antígenos de los agentes causantes de candidosis, aspergilosis, criptococosis y neumocistosis. Además se estableció la concordancia entre las técnicas empleadas.

El estudio se llevó a cabo en el Hospital de Especialidades, en las siguientes áreas: Laboratorio de Investigación Médica en Dermatología y Micología; Laboratorio Central y Unidad de Investigación Biomédica de Inmunobioquímica. Los materiales y equipos fueron de las mismas áreas y los kits para los estudios inmunológicos fueron una donación de Laboratorios BIO-RAD®.

RESULTADOS:

Se ingresaron 34 pacientes al protocolo de estudio en las distintas subclasificaciones de FOD. En total, se obtuvieron 104 especímenes diversos para el estudio de los pacientes, de los cuales 70 se cultivaron y 28 fueron positivos (40%). De 14 aislamientos de hongos, 42.86% fueron de hongos filamentosos del género *Aspergillus* y el 57.14% restante fueron levaduras.

La prevalencia de las micosis invasivas fue de 35.29% ($n=12$). De los 12 pacientes con micosis invasivas, 50% ($n=6$) fueron candidosis, 16.67% ($n=2$) fueron criptococosis y hubo 4 aspergilosis (33.33%).

Platelia™ *Aspergillus* EIA presentó una sensibilidad y especificidad de 75% y 100% respectivamente; Pastorex™ *Crypto* Plus tuvo una sensibilidad del 100% y especificidad del 96.87%; Pastorex™ *Candida* presentó un rendimiento de 0.0% de sensibilidad; a MonoFluo™ *P. jirovecii* no se evaluó el desempeño, debido a que no se obtuvieron resultados positivos en los métodos estándar ni en el método inmunológico.

CONCLUSIONES:

Las micosis oportunistas invasivas en la UMAE, HE CMN SXXI, son una causa importante de morbi-mortalidad en los pacientes con enfermedades y/o tratamientos inmunosupresores. Las infecciones causadas por el género *Candida* fueron las más frecuentes. La aspergilosis ocupó el segundo lugar de frecuencia con una mortalidad de 25%. Finalmente, el género *Cryptococcus* representa la tercera causa de las micosis invasivas.

El uso de métodos inmunológicos, en la mayoría de los casos, podría ser de utilidad para hacer el diagnóstico oportuno de las micosis invasivas oportunistas, principalmente para el estudio de pacientes con criptococosis y aspergilosis.

Por la alta prevalencia de las micosis invasivas, los laboratorios de las Unidades Médicas de Alta Especialidad del CMN Siglo XXI, deben tener en su carta de servicios, pruebas con alta sensibilidad y especificidad para la búsqueda de micosis invasivas y personal altamente capacitado para la identificación de agentes micóticos.

2. INTRODUCCIÓN

MICOLOGÍA: del griego *mykes, myketos*: hongo; *logos*: estudio, tratado. Ciencia que trata del estudio de los hongos.

El primer registro de infección fúngica se describe en el *Atharva Veda*, libro sagrado de los hindúes (2000-1000 a.C.), en referencia al micetoma del pie. Entre los griegos, Hipócrates (460-370 a.C.) describe el algodoncillo bucal (candidosis bucal), y entre los romanos, Aulus Cornelius Celsus (14 d.C.) describe la tiña inflamatoria, candidosis oral y favus.

Hasta la fecha la tiña inflamatoria del pelo se le llama “kerion de Celso” en su honor. El padre de la Micología, Pietro Antonio Micheli (1679-1737), publica en 1729, *Nova Plantarum Genera*, donde describe 900 hongos diferentes, y es el primero en probar que los hongos producen esporas, germinan, y dan origen a colonias fúngicas. Agostino Bassi (1773-1856) de Lombardía, es considerado el padre de la Micología Médica, por descubrir la naturaleza fúngica (*Beauveria bassiana*) de una enfermedad en el gusano de seda (*Bombyx mori*) [1].

La frecuencia de las micosis en México ha aumentado considerablemente en los últimos años, debido a varios factores como el aumento de inmunosupresión favorecida por cirugías, transplantes, drogadicción, citostáticos, diabetes, obesidad, aumento en la esperanza de vida, antiinflamatorios esteroideos y la infección por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) [2]. Otro factor que se pudiera incluir al número de coadyuvantes para la presentación de las micosis, es la marginación económica y social, ya que en un estudio realizado en los años 2004 y 2005 en cinco comunidades con extrema pobreza del territorio mexicano, se realizaron consultas dermatológicas, encontrando que 9 a 20% de las afectaciones son de etiología micótica [3].

2.1. CLASIFICACIÓN DE LAS MICOSIS

A lo largo de la historia las infecciones micóticas se han clasificado de diversas maneras, por ejemplo: en superficiales y profundas; por patógenos primarios o por hongos oportunistas. En esta revisión, utilizaremos la clasificación propuesta por la Organización Mundial de la Salud, que las divide en superficiales, subcutáneas, sistémicas y oportunistas. Aunque debemos decir que algunas micosis oportunistas también son primariamente patógenas, por contar con factores de virulencia que les permiten invadir los tejidos [1]. A continuación, se presentan los diferentes grupos de micosis en cuadros sinópticos.

2.1.1. Micosis superficiales

Cuadro 1. Se presentan las micosis superficiales más frecuentes y los géneros de sus agentes etiológicos.

MICOSIS SUPERFICIALES				
	AGENTES	PRESENTACIÓN CLÍNICA	INFECCIÓN	EVOLUCIÓN
PIEDRAS	<i>Trichosporon</i> spp. <i>Piedraia</i> spp.	Piedra blanca Piedra negra	Contacto directo	Benigna, tienden a la cronicidad
DERMATOFITOSIS	<i>Trichophyton</i> spp. <i>Microsporum</i> spp. <i>Epidermophyton</i> spp.	Tiñas (capitis, corporis, pedis, etc.) Onicomycosis		
ENFERMEDADES POR <i>Malassezia</i>	<i>Malassezia</i> spp.	Dermatitis seborreica Pitiriasis versicolor Foliculitis		
TIÑA NEGRA	<i>Hortaea werneckii</i>	Tiña negra		

2.1.2. Micosis subcutáneas

Cuadro 2. Se presentan las micosis subcutáneas, sus agentes etiológicos y sus vías de ingreso más frecuentes.

MICOSIS SUBCUTÁNEAS					
	AGENTES	PRESENTACIÓN CLÍNICA	INFECCIÓN	EVOLUCIÓN	POBLACIÓN EN RIESGO
ESPOROTRICOSIS	<i>Sporothrix schenckii</i> <i>S. mexicana</i> <i>S. globosa</i>	Esporotricosis fija, linfangítica, sistémica, pulmonar	Solución de continuidad	Benigno Crónico Discapacitante Sistémica en algunas ocasiones	Personas con nivel socio-económico bajo, campesinos, jardineros, leñadores, personas con estados de desnutrición avanzada, inmunosuprimidos.
CROMOBLASTOMICOSIS	<i>Fonsecaea pedrosoi</i> <i>Clamidosporium carrionii</i> <i>Phialophora verrucosa</i> <i>Exophiala</i> spp.	Cromoblastomicosis (principalmente en extremidades inferiores)	Solución de continuidad	Benigno Crónico Discapacitante	
EUMICETOMA	<i>Acremonium</i> spp. <i>Aspergillus</i> spp. <i>Fusarium</i> spp. <i>Curvularia</i> spp. <i>Exophiala</i> spp. <i>Madurella</i> spp. <i>Phialophora parasitica</i>	Micetoma, pie de Madura (principalmente extremidades inferiores)	Solución de continuidad	Benigno Crónico Discapacitante	
LOBOMICOSIS	<i>Lacazia loboi</i>	Lobomicosis	Solución de continuidad	Benigno Discapacitante	
CONIDIOBOLOMICOSIS	<i>Conidiobolus</i> spp.	Conidiobolomicosis	y piel lacerada	Benigno Crónico Discapacitante	
BASIDIOBOLOMICOSIS	<i>Basidiobolus ranarum</i>	Basidiobolomicosis		Benigno Crónico Discapacitante	

2.1.3. Micosis sistémicas

Cuadro 3. Se presentan las micosis sistémicas, los agentes etiológicos y sus vías de ingreso más frecuentes.

MICOSIS SISTÉMICAS					
	AGENTES	PRESENTACIÓN CLÍNICA	INFECCIÓN	EVOLUCIÓN	POBLACIÓN EN RIESGO
HISTOPLASMOSIS	<i>Histoplasma capsulatum</i> y sus variedades	Histoplasmosis pulmonar, sistémica, cutánea	Vía respiratoria	Crónico, sin tratamiento evoluciona a la muerte del hospedero	Mineros, espeleólogos, ecoturistas, inmunosuprimidos
COCCIDIOIDOMICOSIS	<i>Coccidioides immitis</i> , <i>Coccidioides posadasii</i>	Coccidioidomicosis pulmonar, cutánea, invasión ganglionar, sistémica	Vía respiratoria, traumatismo		Inmunosuprimidos, personas que residen o viajan a las zonas endémicas
PARACOCCIDIOIDOMICOSIS	<i>Paracoccidioides brasiliensis</i>	Paracoccidioidomicosis pulmonar, sistémica	Vía respiratoria		Inmunosuprimidos, personas que residen o viajan a las zonas endémicas
BLASTOMICOSIS	<i>Blastomyces dermatitidis</i>	Blastomicosis cutánea, sistémica, osteomielitis, urosepsis, neumonía, invasión ganglionar	Vía respiratoria, traumatismo		Inmunosuprimidos, no se ha relacionado riesgo ocupacional

2.1.4. Micosis oportunistas invasivas

Las micosis oportunistas invasivas son aquellas que se presentan fundamentalmente en hospederos inmunosuprimidos con disfunción de varios de los mecanismos de defensa. En las últimas dos décadas las infecciones oportunistas de origen fúngico se han incrementado y al mismo tiempo han cambiado el espectro, en especial de las micosis invasoras. La mayoría de estas infecciones se debe a hongos de los géneros *Aspergillus* y *Candida*. Sin embargo, recientemente hongos de otros géneros como *Cryptococcus*, *Mucor* y *Pneumocystis*, están siendo aislados con una mayor frecuencia y son responsables de 37% de las infecciones micóticas en transplantados y 43% de las muertes [4].

Cuadro 4. Factores predisponentes de las micosis invasivas oportunistas según Vázquez y Arenas [4].

FACTORES PREDISPONENTES PARA MICOSIS INVASIVAS	
• Transplante de médula ósea	• Enfermedad neoplásica
• Transplante de órgano sólido	• Terapia inmunosupresora
• Cirugía mayor	• Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida
• Edad avanzada	• Recién nacidos prematuros

En el año 2002, el grupo de consenso llamado “European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group” (EORTC/IFICG) y el “National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group” (MSG), publicaron definiciones estandarizadas para la investigación epidemiológica y estudio de las infecciones fúngicas invasivas. Estas definiciones clasifican, al paciente inmunosuprimido, en tres niveles distintos de probabilidad de padecer una infección fúngica invasiva como “posible”, “probable” y “demostrada” [5]. En el 2008, el mismo grupo de consenso revisó las definiciones haciendo ajustes a los criterios utilizados para clasificar a los pacientes con inmunocompromiso; estos ajustes no excluyen del todo a pacientes sin inmunosupresión evidente. Esta es la razón de más peso para no utilizar éstas definiciones como guía en la práctica clínica diaria y solo deben ser utilizadas para apoyar la investigación [6].

Cuadro 5. Características que presentan las infecciones por micosis invasivas oportunistas.

CARACTERÍSTICAS DE LAS MICOSIS INVASIVAS OPORTUNISTAS	
<ul style="list-style-type: none">• Requieren alto grado de inmunosupresión del hospedero• Alta morbilidad	<ul style="list-style-type: none">• Han incrementado su frecuencia debido a tratamientos y enfermedades inmunosupresoras• Alta mortalidad

Cuadro 6. Micosis invasivas oportunistas más frecuentes, según Vásquez y Arenas [4].

MICOSIS INVASIVAS MAS COMUNES	
<ul style="list-style-type: none">• Aspergilosis• Candidosis• Peniciliosis	<ul style="list-style-type: none">• Mucormicosis• Neumocistosis• Criptococosis

2.2 Candidosis

El género *Candida* está compuesto aproximadamente por 200 especies. Algunas de éstas son dimórficas y se pueden presentar como levaduras de 2 a 4µm por 3 a 7µm (imagen 1). En el tejido parasitado se observan además de las levaduras pseudomicelio y micelio. Varias especies son comensales del cuerpo humano y residen en las mucosas, tubo digestivo, aparato respiratorio alto, piel del hombre y otros animales vertebrados, también se desarrollan en detritus y alimentos. Habitualmente, estos organismos no se encuentran en el suelo o en el aire en condiciones naturales. Su distribución es mundial.

En países desarrollados como los EUA, la candidemia es considerada como la 4ª infección del torrente sanguíneo (ITS) más frecuente, con reportes similares en Europa y América Latina, considerada entre la 4ª y 7ª (1,2,3,12,21,23). En un estudio realizado con 1,265 unidades de terapia intensiva (UCI) en 76 países se observó que *Candida* spp. constituía la séptima causa de septicemia en los pacientes, con una prevalencia de 68.7 por cada 10,000 pacientes de UCI (21).

En Europa, la incidencia de ITS por *Candida* spp. varía entre instituciones y países, reportando entre 20 y 158 casos por cada 10,000 pacientes admitidos a las UCI. El reporte de Tortorano et al. sobre un hospital en el que se realizan cultivos de vigilancia y se administra terapia antifúngica profiláctica desde 1983, reporta una incidencia de 26 casos por cada 10,000 admisiones a la UCI (23).

En el reporte SCOPE, donde se estudiaron prospectivamente 24,179 casos de ITS en 42 hospitales de EUA entre 1995 y el 2002, se encontró una incidencia de 60 casos por cada 10,000 hospitalizados. *Candida* spp. tuvo una incidencia de 4.6 por cada 10,000 admisiones hospitalarias, el cuarto lugar en incidencia representando el 9% de todos los aislados y el tercer lugar con un 10.1% en pacientes de UCI (3).



Imagen 1. Microscopía de *Candida* sp., obsérvese las estructuras predominantemente levaduriformes (arriba) y la formas de pseudomicelio (abajo).

Así mismo, las septicemias causadas por *Candida* y otras formas de candidosis invasiva son la causa más común de infecciones fúngicas invasivas en pacientes hospitalizados (22), además de que se ha reportado un aumento en su incidencia en los últimos años, incrementando los aislados de *Candida* spp. de 1995 al 2002 del 8% al 12% (3).

La estancia en UCI ha sido relacionada como factor de riesgo para desarrollar candidemia, con una incidencia hasta 10 veces mayor, comparada con salas de medicina interna o cirugía (4,5,6), presentándose en las UCI más de la mitad de las ITS de todas las etiologías (50.5%) y ocupando *Candida* spp. la tercera en frecuencia (3).

De igual forma, la estancia en UCI por más de una semana aumenta la colonización por *Candida* hasta un 44.4% (15), siendo la estancia prolongada uno de los principales factores predisponentes para padecer candidemia. Otros factores de riesgo son los procedimientos médicos invasivos como el uso de catéter venoso central, ventilación mecánica, nutrición parenteral; uso de antibióticos de amplio espectro, pancreatitis aguda severa (3,7,9); cirugías, especialmente abdominales o aquellas en el tracto gastrointestinal superior; la colonización por *Candida* spp. (23), especialmente del tracto gastrointestinal, ya que se ha documentado la colonización por el mismo genotipo de *Candida* previo a la candidemia (14).

La colonización como factor de riesgo se expone en el reporte de Tortorano et al. en el que se reporta una colonización del 59% de los pacientes al momento de ingreso a la UCI, y desarrollada en el 8.5% de los pacientes durante su estancia en la unidad. En estos últimos la colonización se desarrolló entre los 3 a 18 días de estancia en la unidad, con una media de 8.6 y una mediana de 6. La translocación fúngica puede suceder a través de una pared intestinal intacta al disminuir la función de la mucosa intestinal, como sucede en las enfermedades severas. Lo que pone en evidencia la importancia de la colonización de las mucosas como un factor de riesgo para la infección sistémica (23).

La transfusión de concentrados eritrocitarios, como factor de riesgo, es importante ya que es modificable, una estrategia transfusional restrictiva, podría ser benéfica reduciendo el riesgo de infecciones del torrente sanguíneo (16).

Otros factores menos frecuentes vinculados con el desarrollo de candidemia de origen nosocomial son: el íleo intestinal, sangrado de tubo digestivo, uso de inhibidores de la bomba de protones, y la necesidad de transfusiones sanguíneas y el uso de vasopresores.

En el trabajo presentado por Kett et al. se reportó que los factores de riesgo asociados al uso de intervenciones propias de las UCI y las terapias de apoyo vital no difieren entre los grupos de pacientes con candidemia y bacteriemia (21), por lo que modelos de predicción diseñados para identificar pacientes con riesgo incrementado de presentar candidosis invasiva podrían no ser de utilidad.

En México se cuenta con pocos datos de frecuencia de esta infección, reportándose *Candida* spp. en 16% de las infecciones del torrente sanguíneo en la UCI (17).

Hernández-Hernandez *et al.*, estudiaron de junio de 1999 a mayo de 2000, 268 especímenes de 108 pacientes con inmunosupresión hospitalizados en el Hospital Regional General Ignacio Zaragoza, Cd. de México. Se estudiaron especímenes de origen múltiple. Se obtuvieron 168 cultivos positivos, de los cuales 103 fueron levaduras y 66 fueron hongos filamentosos. El género *Candida* fue el aislamiento más frecuente con 89.6% de los casos de micosis [27].

En cuanto la etiología, en las últimas dos décadas se ha observado un cambio a nivel mundial; aunque *C. albicans* sigue siendo la más común, otras especies de éste género causan hasta el 60% de estas infecciones (3,7,8,12,14).

Las especies de *Candida* también varían por región, siendo América Latina donde las especies de *C. no-albicans* han mostrado tener mayor prevalencia, a diferencia de países Europeos donde *C. albicans* continúa teniendo una prevalencia mucho mayor (21).

En el reporte SCOPE se presentaron los siguientes datos de frecuencia de *Candida* spp.: *C. albicans* representó el 54% de las BSI por *Candida* spp., seguida de *C. glabrata* (18.8%), *C. parapsilosis* (11.4%), *C. tropicalis* (11.1%) y *C. krusei* (2.4%).

En México, en un estudio multicéntrico donde se estudiaron 393 pacientes hospitalizados, se obtuvieron 455 aislamientos, donde 56% fueron identificados como *Candida albicans*, 37% fueron *Candida* no-*albicans*: 47% fueron *C. tropicalis*, 13% *C. parapsilosis*, 12% *C. glabrata*, 10% *C. krusei*. El mismo grupo de estudio realizó una segunda investigación obteniendo 250 aislados de julio a noviembre del 2007; de ellos, 108 aislados correspondieron a *Candida albicans*, 43 a *C. tropicalis*, 25 a *C. glabrata*, 22 a *C. parapsilosis*, 24 a otras levaduras y el resto fueron hongos filamentosos [28].

Se ha relacionado este cambio epidemiológico a la introducción de los azoles de segunda generación en los 80's. Este cambio es relevante para la práctica clínica, ya que *C. glabrata* y *C. krusei*, presentan susceptibilidad reducida y resistencia intrínseca al fluconazol (10,23), así como diferencias en la mortalidad asociada (3). La resistencia que presentan algunas otras especies de *Candida* spp., probablemente se relaciona con el uso previo de azoles, en pacientes con neutropenia, neoplasias hematológicas y trasplante de células madre, probablemente debido a una selección positiva de especies asociada a la exposición profiláctica de estos pacientes a los azoles (12).

En cuanto a la colonización, la mayor frecuencia corresponde a *C. albicans* en 78% de los pacientes, *C. glabrata* 35%, *C. tropicalis* 10% y *C. parapsilosis* 4% (23). Es de notarse la diferencia entre la frecuencia de *C. parapsilosis* como colonizante y patógeno, sugiriendo el origen exógeno de la levadura; y la correspondencia entre frecuencias de *C. albicans*, sugiriendo su origen endógeno. En el trabajo de Miranda et al., dónde se comparó por biología molecular el genotipo de las especies colonizantes con las aisladas en hemocultivos, se concluyó que *C. parapsilosis* parece ser de origen exógeno, al demostrarse por biología molecular la ausencia de relación entre los aislamientos de los hemocultivo y los aislamientos de los sitios frecuentemente colonizados (tracto GI, piel). El aparente origen de las candidemias por *C. albicans* es el tracto gastrointestinal, al demostrar por biología molecular la misma clona entre los aislamientos de los hemocultivos con los aislamientos obtenidos en orofaringe y recto (14).

Una vez instalada la candidosis sistémica, se convierte en una condición que pone en peligro la vida del paciente, con una mortalidad del 24% al 39% en países desarrollados (3,16,17), e incrementa en UCI hasta alcanzar el 47% (3) superada sólo por *P. aeruginosa*. En México se cuentan con pocos datos, algunos autores reportan una mortalidad del 37.5% (17).

Existe también, una variación en la mortalidad relacionada con la especie de *Candida*. Se ha reportado una mortalidad menor para especies como *C. parapsilosis* (29%) y *C. albicans* (36%), en comparación con *C. krusei* (58.7%)(3).

Otro aspecto que debe de considerarse es aumento de días de estancia intrahospitalaria, debido a complicaciones y tratamiento de la misma candidemia, observándose en países desarrollados un aumento entre 3 y 13 días de estancia (16), en consecuencia se incrementan los costos por paciente entre \$3,000 y \$22,000 USD (16).

Debido a la elevada mortalidad, el diagnóstico rápido y el tratamiento adecuado son factores indispensables para la resolución del problema. Los métodos diagnósticos empleados en laboratorios de primer contacto para el diagnóstico de candidosis u otras micosis son la microscopía directa, las tinciones simples y compuestas y los cultivos. En los laboratorios de especialidad, además se cuenta con técnicas de fluorescencia, métodos inmunológicos y de biología molecular.

En las últimas décadas se han desarrollado pruebas de inmunoaglutinación en látex y es uno de los métodos más utilizados por su bajo costo y fácil preparación, pero ha mostrado ser una prueba poco sensible]. Se estima por parte de la casa comercial Bio-Rad® (fabricante de Pastorex™ *Candida*), una especificidad de 99.7% pero una baja sensibilidad promedio de 32%.

Otros estudios inmunológicos para detectar antígenos (ELISA) de acuerdo a diversas publicaciones tienen una sensibilidad entre 40% y 94%; y especificidad entre 94% y 98% (19,25). Existen también estudios colorimétricos, basados en la determinación de (1-3) β -D-glucano, un componente de la pared celular de la mayoría de los hongos, con una sensibilidad del 47% (20); y finalmente las técnicas moleculares entre las que se encuentra PCR y PCR semi anidada, que es

altamente específica, y con sensibilidad de 88% (20), pero aún no se usa de manera general en los hospitales debido al alto costo de la biología molecular y a los requisitos de infraestructura para desarrollar estas técnicas.

2.3. Inmunoensayo enzimático

Los inmunoensayos cuantitativos que emplean enzimas como sonda se desarrollaron como una alternativa a los radioisótopos. Los más utilizados son el ELISA y el EIA. Esencialmente los EIA heterogéneos son similares a los radioinmunoensayos, excepto que emplean enzimas como sonda. Las enzimas hacen posible desarrollar EIA homogéneos, eliminando los pasos de lavado para la separación de conjugados no unidos que de otro modo son necesarios.

Los EIA requieren un proceso secundario para obtener señales mediante la reacción catalítica de las enzimas. Como fase sólida para separar los conjugados libres de los unidos, pueden utilizarse placas de microtiter, partículas de plástico, tubos de plástico, partículas magnéticas y látex con filtros, entre otros. Algunas de las enzimas más utilizadas en varios EIA heterogéneos son la peroxidasa de rábano, fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, glucosa oxidasa, ureasa y catalasa.

La sensibilidad del ensayo cuando se utilizan enzimas puede determinarse por la tasa de recambio de la enzima y por la selección de la medida de la señal, entre los que la quimioluminiscencia es el método más sensible.

El formato del EIA heterogéneo se puede dividir entre ensayos competitivos y no competitivos. Los ensayos competitivos usan conjugados de antígeno-enzima, mientras que los no competitivos incluyen los ensayos inmunométricos de sándwich de dos dianas y los ensayos indirectos para medir anticuerpos. Los ensayos inmunométricos de sándwich han aumentado su popularidad para la determinación de antígenos como hormonas, marcadores tumorales, proteínas plasmáticas y agentes infecciosos.

Un EIA heterogéneo consta de los siguientes pasos: 1- La fase sólida unida a los reactivos se mezcla con el analito; 2- después de la adición del conjugado y la incubación, hay unos pasos de lavado con una solución tamponada que contiene un detergente; 3- la fase sólida se incuba a temperatura constante con la solución de sustrato enzimático; 4- la reacción enzimática se detiene y el producto de la reacción se mide con varios detectores dependiendo del sustrato empleado.

En el EIA colorimétrico, la reacción enzimática se realiza utilizando sustratos cromogénicos para desarrollar un color mediante la reacción catalítica principal. Las enzimas más utilizadas son la peroxidasa de rábano y la fosfatasa alcalina. Un espectrofotómetro se utiliza para medir la densidad óptica del cromógeno resultante.

En el ensayo Platelia-Candida Ag plus de Bio-Rad, es un ELISA colorimétrico tipo sándwich, utilizado para cuantificar el antígeno de manano en suero o plasma. El manano es el componente principal de la pared celular de *Candida*, tanto cuantitativa como cualitativamente y es el componente inmunodominante soluble de las especies de *Candida* (30). Es un polisacárido de alto peso molecular que se libera de la pared celular de la levadura durante la infección y puede ser cuantificado en sangre.

Varios estudios han demostrado su rol como un potente modulador de la inmunidad innata y adaptativa. Los polisacáridos de manano y mananoconjugados comparten los epitopes de oligomanosa, estos despiertan una respuesta inmunológica generando producción de diferentes subclases de anticuerpos, en algunos casos protectores, y posterior a su liberación por las células fúngicas, circulan en el torrente sanguíneo.

En 1991 se introdujo al mercado una prueba de aglutinación en látex para la detección de antígenos de manano utilizando un anticuerpo monoclonal EB-CA1. Posteriormente, un inmunoensayo enzimático tipo sándwich en microplaca, más sensible, se desarrolló en 1999 (28).

Los estudios inmunológicos por ELISA han mostrado la habilidad de detectar el antígeno circulante de manano 2 a 18 días anteriores a la detección de la candidemia por hemocultivo (24,25), pero también han mostrado una baja o nula reactividad en *C. parapsilosis* y *C. krusei* (26). El hemocultivo es fácil de realizar y es reconocido como el “gold standard” en el diagnóstico de candidosis invasiva, sin embargo se conoce desde hace tiempo su baja sensibilidad. Por tanto, el hemocultivo o los estudios inmunológicos no deben ser considerados como los únicos estudios diagnósticos en el abordaje de una candidosis invasiva. Algunos autores consideran que la inclusión

de una prueba de determinación del antígeno manano en la investigación microbiológica del paciente en riesgo contribuye al diagnóstico de candidosis invasiva y a un tratamiento efectivo (25).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En diferentes partes del mundo, se muestra a la candidosis invasiva como un problema de salud dada su elevada morbilidad.

En México y particularmente en el CMN no se cuenta con datos de la frecuencia de candidosis en pacientes de UCI. Tampoco se conoce la frecuencia de las especies de *Candida*, dato importante para el tratamiento por la resistencia intrínseca que algunas especies muestran a los antifúngicos.

Desde el punto de vista de diagnóstico, los métodos empleados habitualmente son los microbiológicos, raramente se hace el diagnóstico inmunológico pues no se cuenta con el material necesario y mucho menos se tienen montadas técnicas de biología molecular, en consecuencia seguramente, el diagnóstico de candidosis en estos pacientes, o se retrasa o no se hace.

4. JUSTIFICACIÓN

Actualmente no se cuenta con datos sobre la frecuencia de candidosis invasiva en pacientes de las unidades de cuidados intensivos del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Datos necesarios para mejorar la atención de los pacientes. Así mismo, la metodología para el diagnóstico de las candidosis, actualmente se basan en estudios microbiológicos que incluyen hemocultivo, tinciones y estudios en fresco, así como estudios de histopatología, metodología que se caracteriza por una baja sensibilidad y retardo en el diagnóstico.

5. HIPÓTESIS

La frecuencia de candidosis invasiva en pacientes de UCI será mayor a la frecuencia mundial.

6. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GENERAL

- Conocer la frecuencia de candidosis en las Unidades de Cuidados Intensivos del Hospital de Especialidades y del Hospital del CMN Siglo XXI IMSS.CMN SXXI.

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Conocer la frecuencia de candidosis en las UCI de cada hospital
- Conocer la frecuencia de agentes etiológicos
- Comparar la sensibilidad y la especificidad de los métodos de diagnóstico inmunológico contra los microbiológicos.
- Determinar la concordancia entre los métodos
- Correlacionar candidosis y los factores estudiados, para establecer una relación de riesgo.

7. MATERIAL Y MÉTODOS

7.1. UNIVERSO DE TRABAJO

Se incluyeron de Junio a Agosto del 2012, a todos los pacientes del HE CMN SXXI y del HC CMN SXXI que cumplieron los criterios de inclusión.

Se tomaron 20 muestras de pacientes sanos, como grupo control. Los pacientes fueron seleccionados con los criterios de salud del Banco Central de Sangre del Siglo XXI.

7.1.1. Criterios de inclusión

- Pacientes mayores de 18 años hospitalizados en la UCI del HE CMN SXXI o del HC CMN SXXI.
- Pacientes que cumplieran un mínimo de 24 hrs de hospitalización en la UCI.

7.1.2. Criterios de exclusión

- Pacientes internados con imposibilidad para tomar muestra sanguínea.

7.2. PROCEDIMIENTOS

Se toma una muestra de sangre, obtenida por técnica estéril, durante las primeras 24hrs posterior al ingreso del paciente a la UCI. Se continua con la toma de muestras a lo largo de la estancia en la UCI del paciente, con una periodicidad de 4 días. Así como revisión del expediente clínico, de enfermería y de resultados de laboratorio con la misma periodicidad.

A partir de la muestra sanguínea obtenida del paciente, se intenta aislar o visualizar *Candida spp.*

- Visualización: Se emplean preparaciones fijas de la muestra.
- Aislamiento: Se siembra la muestra sanguínea en medio agar dextrosa Sabouraud y agar dextros Sabouraud con antibiótico a 25 °C y 37 °C.
 - Identificación por morfología
 - Identificación por auxonograma y métodos automatizados

7.2.1. Especímenes

- Sangre Total: Se obtiene sangre periférica con técnica aséptica, por medio de punción venosa periférica en tubo estéril, con EDTA. La muestra de sangre total se centrifuga a 3500 RPM por 15 minutos para separar el plasma.
 - El plasma es congelado a -70 °C hasta su análisis por inmunología.
- El paquete globular y el paquete leucocitario son sembrados de manera estéril en tubos de agar dextrosa Sabouraud y agar dextrosa Sabouraud con antibiótico a 25 °C y 37°C. Cuatro tubos en total por cada muestra, y se realizan 3 laminillas para su observación al microscopio.

7.2.2. Visualización, cultivo e identificación de hongos

- Tinción de Gram: Se coloca una gota de muestra en un portaobjetos, se fija con calor y se tiñe siguiendo el método de Gram:
 - Cristal violeta 60 segundos

- Lugol 60 segundo
- Decoloración con alcohol acetona
- Safranina 60 segundos
- Se permite secar al aire y se observa con objetivo seco débil, seco fuerte e inmersión (1000x).
- Tinción de Ziehl-Neelsen: Se coloca una gota de muestra en un portaobjetos, se fija con calor y se tiñe:
 - Fuscina 5 minutos a punto de evaporación
 - Decoloración con alcohol-ácido
 - Contratinción con azul de metileno
 - Se observa a seco débil, seco fuerte e inmersión
- Tinción de Giemsa: Se realiza un extendido de la muestra y se fija con metanol. Se tiñe con la técnica conocida:
 - Tinción de Giemsa por 5 minutos
 - Buffer de fosfatos por 5 minutos
 - Se observa con objetivo de inmersión.
- Cultivo de Candida: Se siembra de manera estéril el paquete globular y el paquete leucocitario en cuatro tubos, dos de ellos con agar dextrosa Sabouraud y dos con agar dextrosa Sabouraud con antibiótico. Se incuban por 14 días, a 25 °C y a 37 °C.
- Identificación: Se analizó cualquier crecimiento en los medios de cultivo
 - Morfológico: Se identifican por visualización macroscópica las colonias desarrolladas en los medios de cultivo. Aquellas colonias levaduriformes se visualizan por microscopía con azul de algodón.
 - Automatizada: Se utiliza la colonia aislada y se realiza una suspensión con una concentración de 2 McFarland y se asigna una tarjeta de identificación YST VITEK®2 y una tarjeta de antibiograma AST-YS01 VITEK®2.
 - Auxonograma: Se utiliza una colonia aislada y suspendida en los medios proveídos por el fabricante a las concentraciones recomendadas y se inoculó en los pocillos. La reacción se leyó a las 72 horas y se ingresaron los datos al programa apiWeb® para identificación del agente.

7.2.3. Detección de antígenos en plasma

Se realiza en el ensayo comercial Platelia™ *Candida* Ag Plus. Se fundamenta en un inmunoensayo enzimático heterogéneo, tipo sándwich, en microplaca, para la detección de manano en suero o plasma. Utiliza un solo tipo de tipo de anticuerpo monoclonal llamado EBCA1 murino, dirigido contra el oligosacárido de manano, el cual se encuentra en grandes cantidades en la pared celular de *Candida* spp,

- Se toman 300 µL de plasma de la muestra del paciente y se coloca en un tubo hermético de 1.5 mL,
- Se añaden 100 µL de EDTA y se mezcla en vortex.
- Se incuba la mezcla por 3 minutos a 100 °C y se centrifuga a 10,000 gravedades por 10 minutos.
- Se toman 100 µL de sobrenadante y se depositan en su pocillo correspondiente, previamente sensibilizado con anticuerpos de captura EBCA1.
- Se añadieron 100 µL del anticuerpo de detección EBCA1 conjugados con peroxidasa y se incubó la placa por 90 minutos a 37 °C.
- Posteriormente se realizaron 5 lavadosSe reveló la reacción añadiendo la solución cromógena e incubando a temperatura ambiente por 30 minutos en la oscuridad y posteriormente añadiendo ácido sulfúrico para detener la reacción cromógena
- Se leyó la densidad óptica a λ igual a 450nm y 620nm.
- Cada experimento incluyó una curva de calibración y un control negativo.

La interpretación de los resultados se realizó comparando la densidad óptica de cada uno con la curva de calibración correspondiente. Se interpoló el resultado y se evaluó de la siguiente manera:

- Positivo: Mananemia >125 pg/mL
- Indeterminado: Mananemia entre 62.5 – 125 pg/mL
- Negativo: Mananemia <62.5 pg/mL

El control de calidad del ensayo se realizó según las especificaciones del fabricante incluyendo una curva de calibración con cada corrida, junto con un control negativo y un control positivo. En caso de resultados incongruentes en la curva de calibración o los controles, se rechaza la corrida y se realiza nuevamente el ensayo.

7.2.4 Variables

Cada toma de muestra es acompañada de una revisión de procedimientos invasivos implementados en el paciente, antecedentes y tratamiento. La recolección de datos se realiza a través de revisión del expediente clínico, del expediente de enfermería, del expediente del laboratorio y a través de la historia clínica.

Variable	Categoría	Escala	Unidad	Definición operacional
Sexo	Cualitativa	Nominal	Masculino Femenino	Sexo del paciente evaluado durante la historia clínica
Estancia en UCI	Cuantitativa	Numérica discreta	Días	Tiempo en días a partir del ingreso a la UCI
Antifúngicos	Cualitativa	Nominal	Presente	Uso de antimicóticos sistémicos
Antibióticos de amplio espectro	Cualitativa	Nominal	Presente	Uso de antimicrobianos de amplio espectro
Cuenta leucocitaria	Cuantitativa	Numérica continua	Cels por microlitro	WBC del día en que se recolecta la muestra
Catéter Venoso Central	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación del observador de la presencia de un CVC el día de recolección de muestra
Catéter arterial	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación del observador de la presencia de un catéter arterial el día de recolección de muestra
Ventilación mecánica		Nominal	Presente	Evaluación del observador de la presencia de ventilación mecánica el día de recolección de muestra
Nutrición	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación del observador de la presencia de nutrición parenteral el día

Parenteral				de recolección de muestra
Nutrición enteral	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación del observador de la presencia de nutrición enteral el día de recolección de muestra
Catéter urinario	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación del observador de la presencia de sonda urinaria el día de recolección de muestra.
Hemodiálisis	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación del observador de la presencia de hemodiálisis o catéter mahurkar el día de recolección de muestra
Diálisis peritoneal	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación del observador de la presencia de diálisis peritoneal o catéter tenckhoff el día de recolección de muestra
Antecedente quirúrgico	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación del observador en base al expediente clínico sobre el antecedente de eventos quirúrgicos en los últimos 30 días
Cirugía abdominal	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación del observador en base al expediente clínico sobre el antecedente de cirugía abdominal durante el internamiento
Cirugía gastrointestinal superior	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación del observador en base al expediente clínico sobre el antecedente de cirugía que haya comprometido al tracto gastrointestinal superior durante el internamiento
Inhibidores bomba de protones	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación del observador en base al expediente de enfermería sobre el uso de inhibidores de la bomba de protones durante el internamiento
Corticoesteroides	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación del observador en base al expediente clínico y de enfermería sobre el uso corticoesteroides de forma crónica o durante el internamiento en dosis mayores a 20mg/día
Terapia inmunosupresora	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación del observador en base al expediente clínico y de enfermería sobre el uso de inmunosupresores de forma

				crónica o durante el internamiento
Transfusión de Concentrados Eritrocitarios(CE)	Cuantitativa	Numérica discreta	Cantidad en número de CE	Evaluación del observador en base al expediente clínico y del servicio de transfusiones sobre el uso y la cantidad de CE al momento de la recolección de muestra durante el internamiento
Mananemia	Cuantitativa	Numérica continua	ng/mL	Evaluación de la presencia y cantidad de manano en suero o plasma del paciente, a través de una prueba de ELISA
Candidemia	Cualitativa	Nominal	Presente	Evaluación de la presencia de <i>Candida</i> spp. en hemocultivo.
Especie de <i>Candida</i> spp.	Cualitativa	Nominal	C. albicans C. tropicalis C. krusei C. parapsilosis C. glabrata otro	Evaluación de la especie de <i>Candida</i> spp. aislada de hemocultivos y otros especímenes a través de auxonograma y medios cromogénicos.

7.2.4 Equipos utilizados

- Equipo de identificación:
 - VITEK®2, bioMérieux®; Durham NC/USA
 - Tarjetas de Identificación
 - YST VITEK®2, bioMérieux®; Durham, NC, USA
 - AST-YS01 VITEK®2, bioMérieux®; Durham, NC, USA
- Equipo de auxonograma:
 - api®20 C AUX, bioMérieux®; Marcy l'Etoile, FRANCE
- Equipo inmunológico
 - Platelia™ *Candida* Ag Plus; BIO-RAD®; Marnes la Coquette, FRANCE
 - Espectrofotómetro: Multiskan Ascent V1.25

7.2.5. Instalaciones

- Laboratorio de Investigación Médica en Dermatología y Micología HE CMN SXXI
- Unidad de Investigación Biomédica en Inmunobioquímica HE CMN SXXI
- Laboratorio Central HE CMN SXXI
- Laboratorio Central HC CMN SXXI

7.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

- Estudio observacional, descriptivo y prospectivo
- Evaluación estadística:
 - Medidas de tendencia central: Para análisis de frecuencias
 - Índice de concordancia de Kappa modificada: Para definir la concordancia entre el método inmunológico y los hemocultivos.
 - Teorema de Bayes: Para definir la sensibilidad, especificidad y valores predictivos del método inmunológico.
 - Prueba de t de Student: Para analizar las diferencias poblacionales de edad, cuenta total de linfocitos y neutrófilos entre los pacientes con y sin resultados positivos.
 - Prueba U de Mann-Whitney: Para analizar el riesgo asociado a la estancia hospitalaria para desarrollar candidosis.
 - Prueba de Riesgo Relativo: Para definir el riesgo relativo de cada una de las variables definidas.

8. RESULTADOS

A lo largo del periodo de toma de muestra, se estudiaron en total 76 pacientes consecutivos internados en la UCI del HC CMN SXXI y del HE CMN SXXI. Se incluyeron 37 pacientes de la UCI del HE CMN SXXI y 39 pacientes del HC CMN SXXI. Se tomaron un total de 149 muestras, 81 del HE y 68 del HC, utilizadas para realizar hemocultivos, tinciones y pruebas inmunológicas.

En el HC CMN SXXI se obtuvieron 39 muestras de pacientes en las primeras 24 hrs de internamiento en la UCI, 18 muestras de pacientes que cumplieron una estancia de 4 días y 11 muestras de pacientes que cumplieron 8 días de estancia en la UCI.

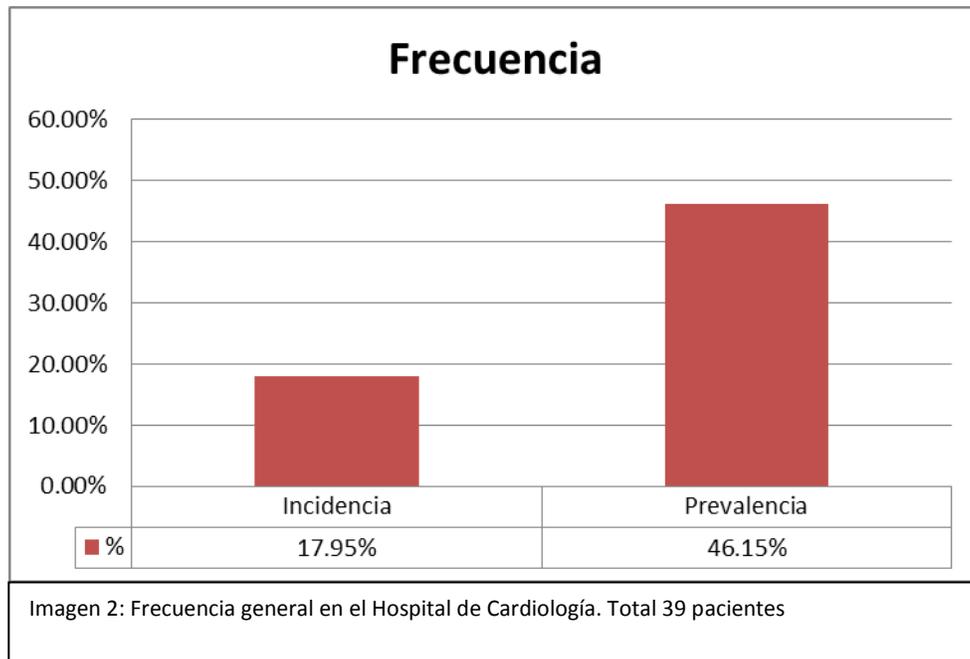
En el HE CMN SXXI se obtuvieron 37 muestras de pacientes en las primeras 24 hrs. Se obtuvieron 25 muestras de pacientes que cumplieron 4 días de estancia en la UCI, 12 muestras de pacientes que tuvieron una estancia mayor a 8 días, 6 pacientes del día 12 y finalmente 1 paciente al día 16.

Los resultados de los hemocultivos fueron en su totalidad negativos, así como las tinciones, por lo que los resultados se basan en los métodos inmunológicos.

8.1. Análisis de frecuencia en el HC CMN SXXI

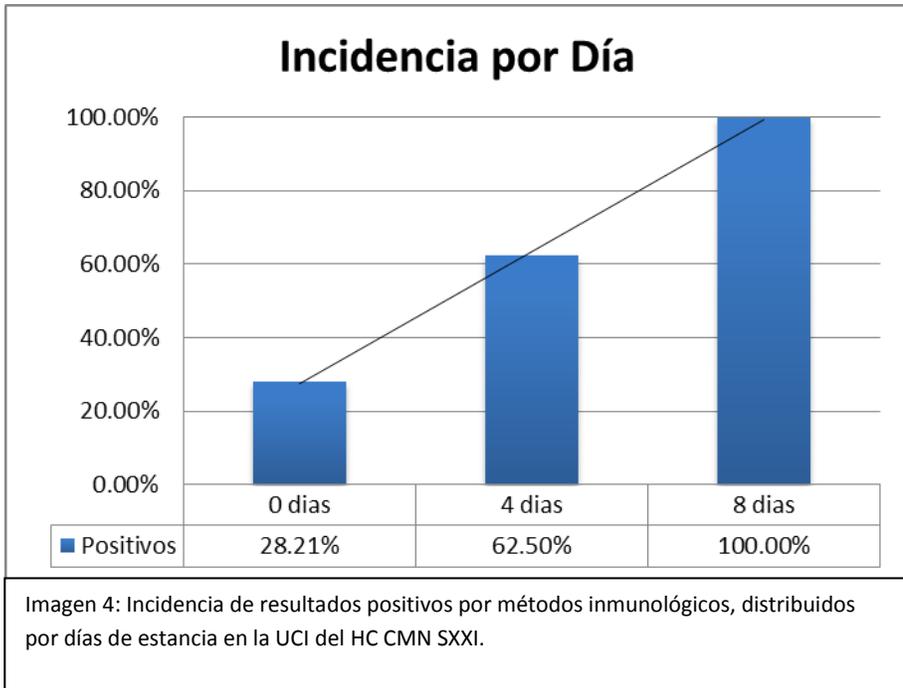
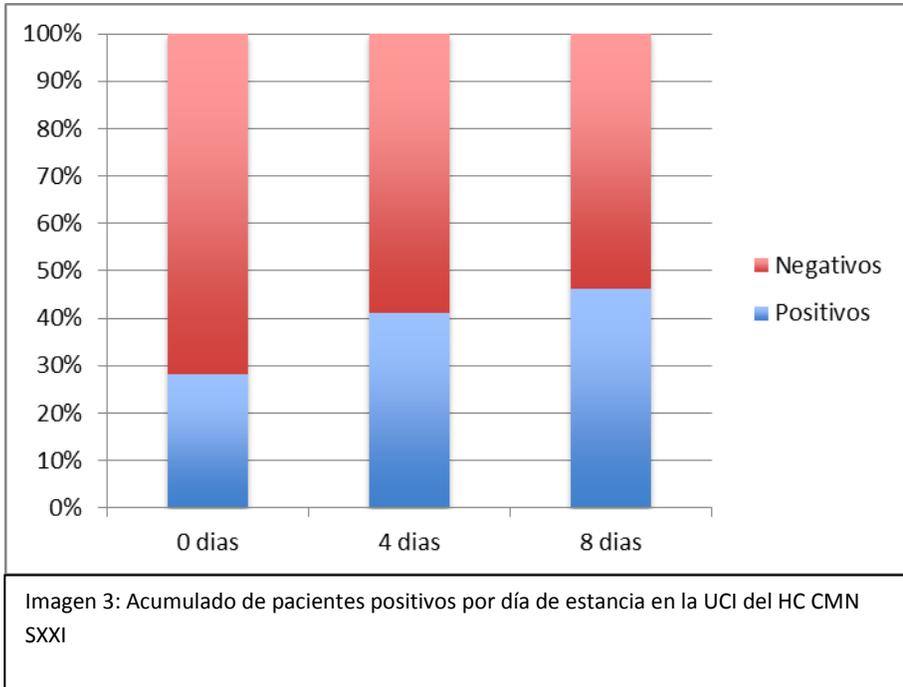
Los casos fueron analizados por paciente, considerados como positivos en caso de haber presentado un resultado positivo en la primera muestra, más de un resultado reactivo a lo largo de su estancia o resultados indeterminados precedidos por resultados claramente reactivos.

En el Hospital de Cardiología resultaron 18 pacientes positivos y 21 negativos, representando el 46.15% de positivos y 53.85% de negativos. Del total de 39 pacientes, 28.21% de los pacientes fueron positivos al inicio de su estancia en la UCI. La incidencia general fue de 17.95% y la prevalencia general de 46.15% (Imagen 2).

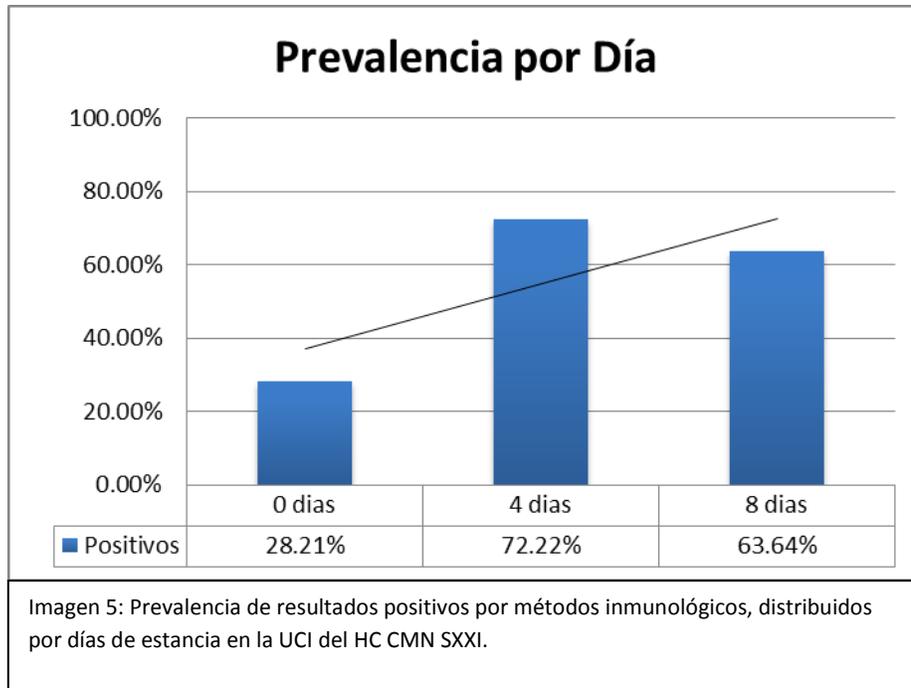


En la Imagen 3 se muestra un acumulado de pacientes a lo largo de los 8 días de estancia, formando un acumulado y representando los casos positivos en las primeras 24 hrs y la comparación con los casos positivos al final de la estancia en la terapia. Los resultados muestran el 28.21% de pacientes positivos al inicio de la estancia, 41.03% del total de pacientes eran positivos al día 4 y finalmente, 46.15% de pacientes eran positivos al día 8.

Tomando en cuenta los casos nuevos por días de estancia, tenemos una incidencia de 28.21% al primer día, 62.5% al día 4 y finalmente una incidencia del 100% al octavo día. En la Imagen 4 se muestra una gráfica con los porcentajes y la tendencia de resultados positivos por día.

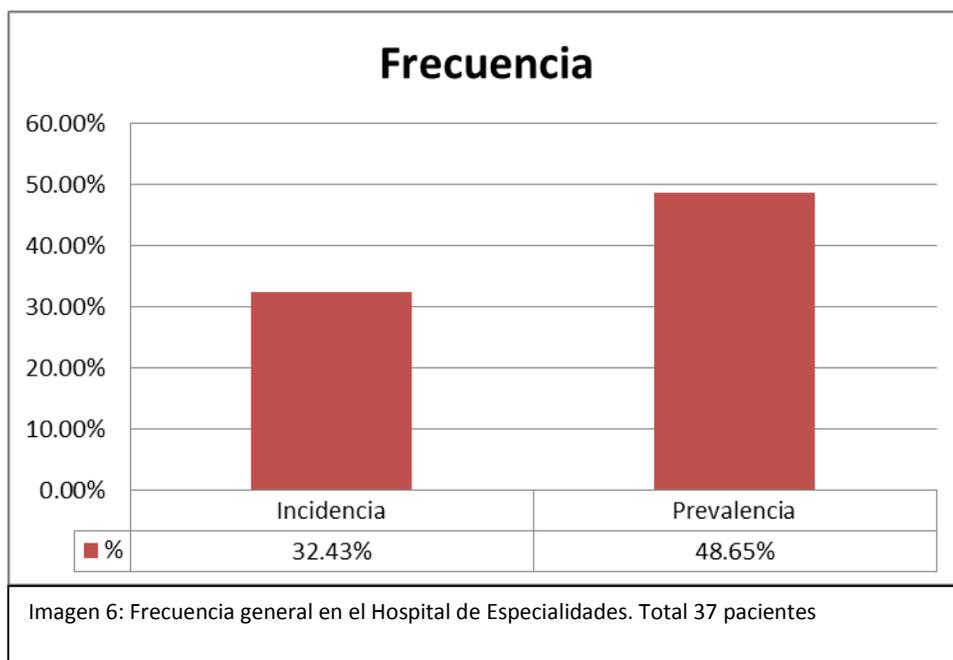


En los resultados de prevalencia, distribuidos por día de estancia en la UCI, tenemos una prevalencia de 28.21% al primer día, una prevalencia del 72.22% al cuarto día y una prevalencia del 63.64% al octavo día. La prevalencia disminuye al 8 día dado que la proporción correspondiente de pacientes tuvo un resultado negativo posterior a haber obtenido resultados positivos en los días anteriores (imagen 5).



8.2. Análisis de frecuencia en el HE CMN SXXI

Los resultados en el Hospital de Especialidades muestran 18 pacientes con resultados positivos y 19 con resultados negativos. De los 37 pacientes de la población, 6 pacientes representando el 16.22% fueron positivos desde la primera muestra o primer día. Resultando en una incidencia general del 32.43% y una prevalencia del 48.65% (Imagen 6).



En la Imagen 7 se muestra un acumulado de la prevalencia por días de estancia en la UCI del HE CMN SXXI. En el día 0 encontramos 16.22% de pacientes con resultados positivos, al día 4 un 29.73%, al día 8 un 37.84%, hasta llegar al 48.65% de resultados positivos al día 16. En la gráfica se compara la diferencia entre los resultados positivos acumulados al final del día 16 con los positivos al inicio del estudio.

Analizando cada uno de los días por separado, encontramos 25% (5 pacientes) de casos nuevos en el día 4, un 37% (3 pacientes) en el día 8, aumentando a 75% (3 pacientes) en el día 12 al cual 4 pacientes aún no tenían resultados positivos. Finalmente a los 16 días un solo paciente presentó una estancia prolongada y que aún no presentaba un resultado positivo en las muestras anteriores, representando el 100% de incidencia al presentar un resultado positivo al día 16 (Imagen 8).

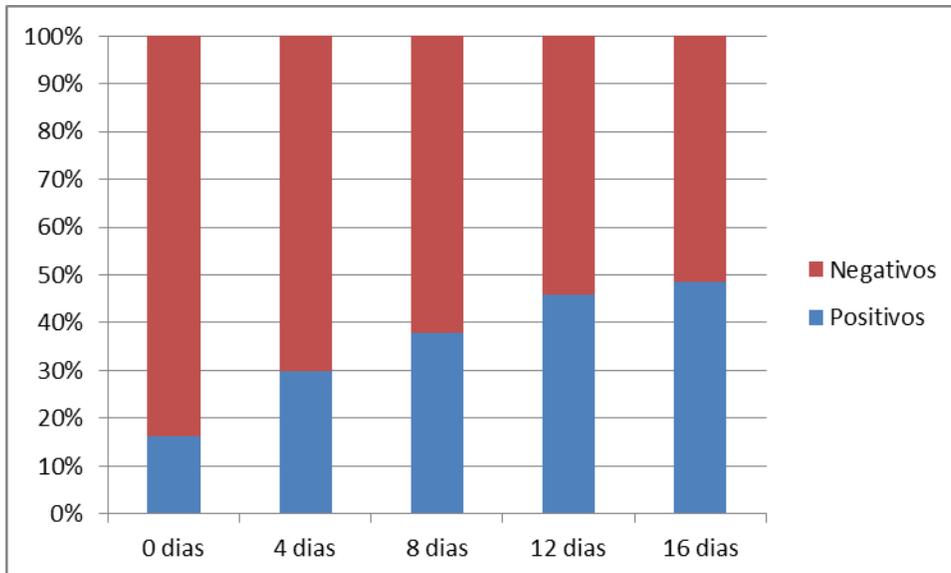


Imagen 7: Acumulado de pacientes positivos por día de estancia en la UCI del HE CMN SXXI

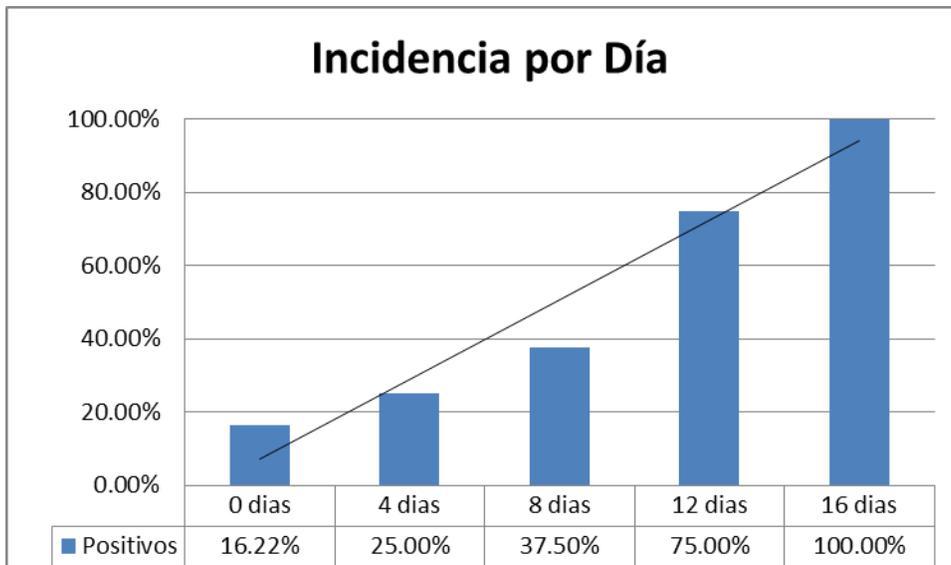
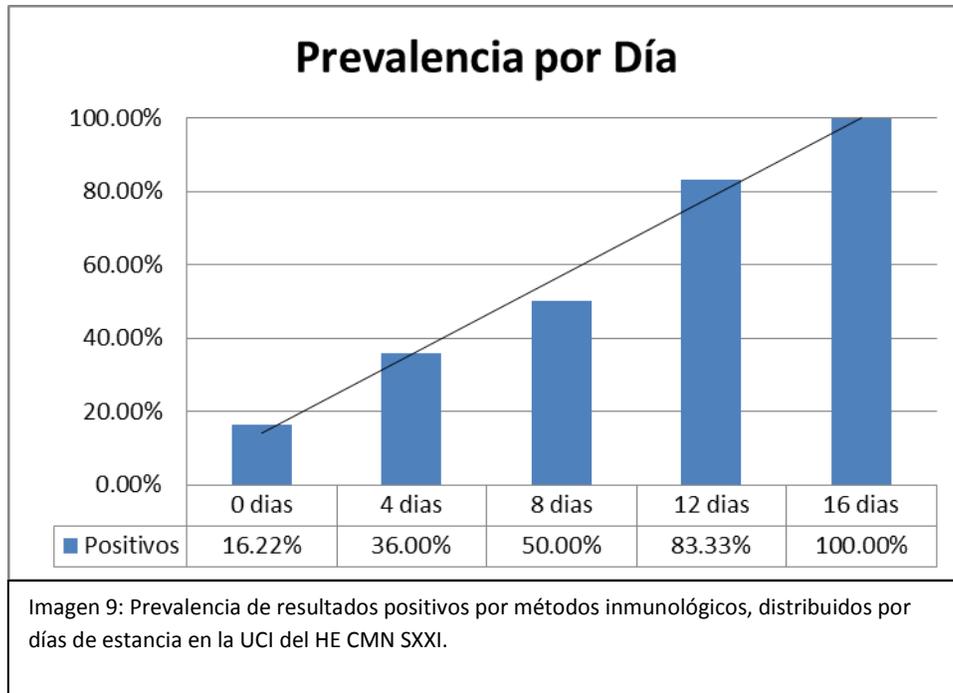


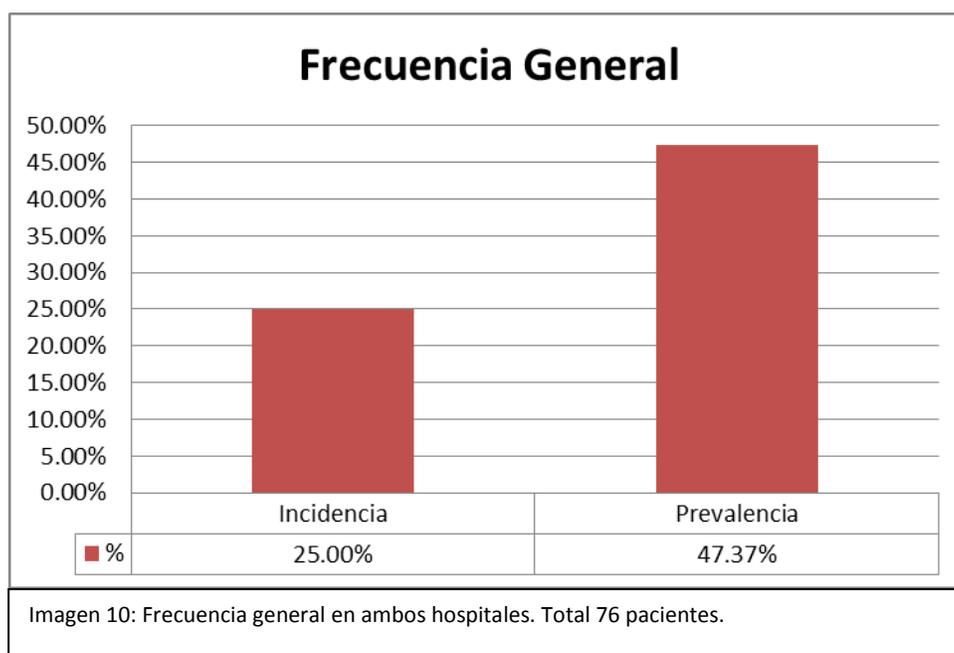
Imagen 8: Incidencia de resultados positivos por métodos inmunológicos, distribuidos por días de estancia en la UCI del HE CMN SXXI.

En cuanto al análisis de prevalencia por día, encontramos un aumento constante a lo largo de los días de estancia en la UCI. Al día 4 encontramos 9 pacientes con resultados positivos y 25 internados, representando el 36%. Al día 8 encontramos 6 pacientes con resultados positivos de los 12 internados, representando el 50%. Al día 12 y 16 tenemos una prevalencia de 83.33% y 100%, respectivamente (Imagen 9).



8.3. Análisis de frecuencia de ambos hospitales

Se realizó un análisis de datos con el total de pacientes. Con un total de 76 pacientes, se obtuvieron resultados positivos en 36 pacientes, que representan el 47.7% y un 22.37% de pacientes presentaron un resultado positivo en la primera muestra. La incidencia general resultó en 25% y la prevalencia en 47.37% (Imagen 10).



La Imagen 11 muestra la prevalencia acumulada por día de estancia hospitalaria. Se muestra un prevalencia acumulada de 35.53% en la segunda muestra, 42.11% en la tercera, 46.05% al día 12 y 47.37% a los 16 días, representando la prevalencia general.

Los resultados de casos nuevos por día muestran una tendencia creciente, con 10 (35.71%) casos nuevos el día 4, 5 (50%) casos nuevos al día 8, 3 (75%) casos nuevos el día 12 y un caso nuevo el día 16 representando el 100% (Imagen 12). En general los resultados a partir de la cuarta muestra representan al Hospital de Especialidades, ya que los pacientes del Hospital de Cardiología no superaron el día 8.

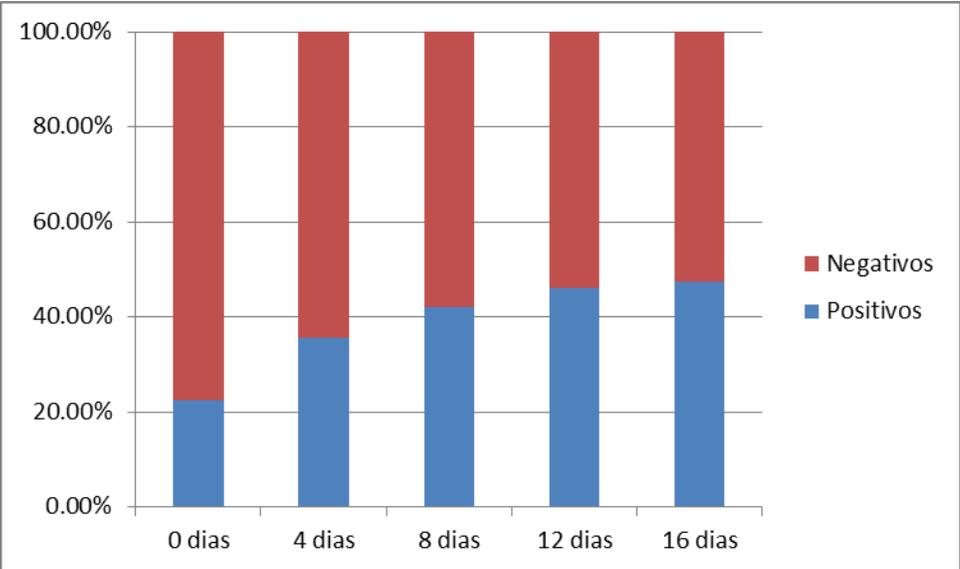


Imagen 11: Prevalencia acumulada por día. Total 76 pacientes.

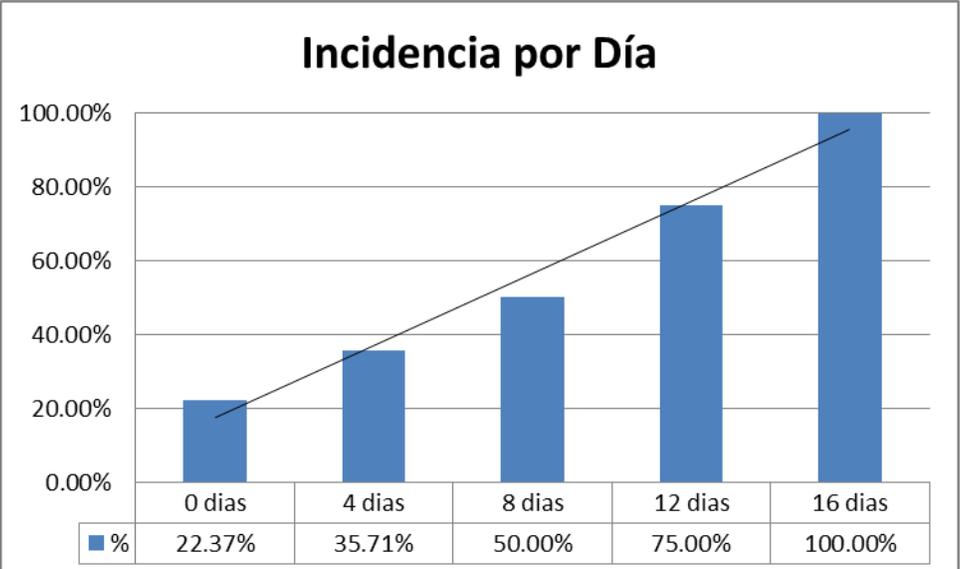
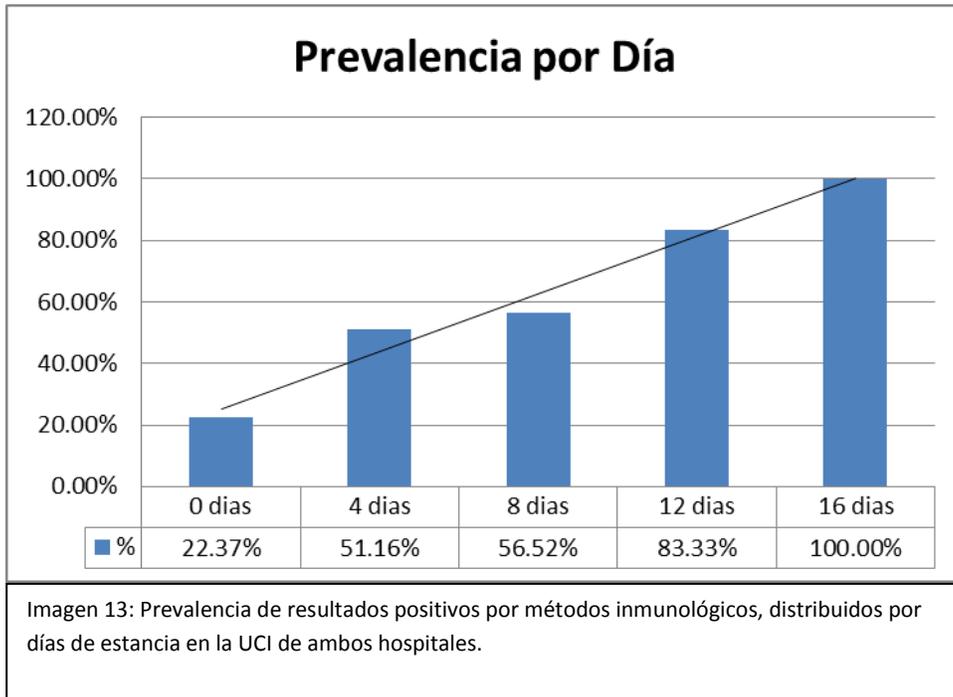


Imagen 12: Incidencia distribuida por día en ambos hospitales. Total 76 pacientes.

La prevalencia distribuida por día muestra una tendencia creciente, con resultados positivos en 22 (51.16%) pacientes de 43 pacientes con mas de 4 días de estancia en la UCI. A los 8 días encontramos 13 (56.52%) pacientes positivos de 23. Al día 12 5 pacientes de 6 y por último, al único paciente con 16 días de estancia en UCI representando el 100% (Imagen 13).



8.4 Riesgo Relativo

Se realizó un análisis estadístico en base al resultado positivo o negativo a las pruebas inmunológicas para definir el riesgo relativo de cada variable medida, así como su significancia estadística con intervalos de confianza del 95%,

En las tablas siguientes se muestran las variables distribuidas por Hospital de Cardiología, Hospital de Especialidades y por último el acumulado. Una $p < 0.05$ es considerada estadísticamente significativa.

Hospital de Cardiología			
Factor de Riesgo	RR	p	IC 95%
Antibiótico	1.84	0.051	0.99 – 3.12
Antimicótico	1.67	0.24	0.69 – 3.99
CVC	1.96	0.14	0.79 – 4.81
Cat. Arterial	1.08	0.93	0.148 – 7.89
Vent. Mecánica	2.12	0.01	1.18 – 3.81
NPT	1.08	0.07	0.14 – 7.89
Nutrición Enteral	2.37	<0.01	1.46 – 3.85
Sonda Foley	4.48	0.02	1.2 – 16.7
Hemodiálisis	1.67	0.24	0.69 – 3.99
Diálisis Peritoneal	1.91	0.04	1.02 – 3.57
IBP	2.25	0.02	1.12 – 4.55

Cuadro 7: Riesgo relativo de variables en el HC CMN SXXI

Hospital de Especialidades			
Factor de Riesgo	RR	p	IC 95%
Antibiótico	3.84	0.04	1.04 – 14.07
Antimicótico	1.97	0.01	1.16 – 3.33
CVC	2	0.57	0.17 – 22.53
Cat. Arterial	1.41	0.43	0.59 – 3.40
Vent. Mecánica	4.68	0.1	0.73 – 30.08
NPT	1.28	0.54	0.57 – 2.86
Nutrición Enteral	2.13	0.09	0.87 – 5.19
Sonda Foley	2.91	0.41	0.22 – 37.43
Hemodiálisis	0.66	0.62	0.12 – 3.42
Diálisis Peritoneal	1.02	0.97	0.14 – 7.49
IBP	0.85	0.63	0.44 – 1.64
Esteroides	1.22	0.59	0.58 – 2.58
CE	0.74	0.41	0.37 – 1.49
Qx	1.25	0.69	0.40 – 3.86
Qx Abdominal	1.03	0.93	0.47 – 2.27
Qx Gastrointestinal	1.58	0.29	0.66 – 3.78
Transplante Renal	1.58	0.29	0.66 – 3.78
DM	0.77	0.54	0.33 – 1.78
IRA	1.02	0.96	0.24 – 4.28
CA	1.02	0.96	0.24 – 4.2
Pancreatitis Aguda	1.58	0.29	0.66 – 3.78

Cuadro 8: Riesgo relativo de variables en el HC CMN SXXI

Hospital Acumulado			
Factor de Riesgo	RR	p	IC 95%
Antibiótico	1.56	1.94	0.97 - 2.52
Antimicótico	2.02	0.0004	1.37 - 2.98
CVC	1.96	0.12	0.82 - 4.7
Cat. Arterial	1.43	0.4	0.61 - 3.3
Vent. Mecánica	2	0.01	1.18 - 3.38
NPT	1.2	0.5	0.60 - 2.75
Nutrición Enteral	1.91	0.005	1.21 - 3.03
Sonda Foley	4.53	0.02	1.21 - 16.88
Hemodiálisis	1.05	0.91	0.38 - 2.90
Diálisis Peritoneal	1.81	0.03	1.03 - 3.17
IBP	1.08	0.75	0.65 - 1.80

Cuadro 9: Riesgo relativo de variables en el HC CMN SXXI

9. DISCUSIÓN

A lo largo del estudio, se tomaron 149 muestras de un total de 76 pacientes. Las muestras se utilizaron para realizar estudios microbiológicos y estudios inmunológicos. Los resultados de los hemocultivos fueron negativos para las 149 muestras. Tomando en cuenta que en estudios similares se presentaron frecuencias de candidemia bajas, de 1 a 4 casos por cada 1000 pacientes, es lógico pensar que en 76 pacientes no se presentaron casos. Aún más cuando se considera que la población de estos estudios se basa en pacientes con sospecha clínica de sepsis o con estudios microbiológicos solicitados, lo que podría sobreestimar la frecuencia de las candidemias en estos estudios.

Es necesario enfatizar que los hemocultivos se realizaron en medios de cultivo preparados en el laboratorio, los cuáles presentan una sensibilidad menor que los hemocultivos comerciales. Pero al revisar los resultados de microbiología del laboratorio de rutina, no se encontraron hemocultivos positivos para levaduras. También es necesario enfatizar, que no se realizaron hemocultivos seriados en cada día de muestreo, tomando una muestra para hemocultivo por día, lo que reduce la sensibilidad del estudio.

Sin el resultado positivo de un hemocultivo, no se puede hacer el diagnóstico definitivo de candidemia. Por lo que no se puede hacer un análisis de correlación de métodos diagnósticos. Por lo tanto, los resultados presentados como positivos, fueron interpretados como tal en base a los estudios inmunológicos.

Dada la alta prevalencia e incidencia encontrada en ambas unidades de cuidados intensivos, de alrededor de 1000 veces la incidencia mundial, y dado que no se puede corroborar el resultado inmunológico positivo sin un hemocultivo positivo, no es posible asegurar el desempeño del método. Sin embargo, el estudio realizado por Tortorano et al. (23), en el que se reporta una colonización por *Candida* spp. en pacientes al ingreso a la terapia superior al 50%, con

una incidencia mucho menor y demostrada por medio de cultivos de vigilancia. Estos guardan mejor relación con los resultados observados en ambas Unidades, por lo que probablemente los resultados positivos representen colonizaciones en vez de verdaderas candidemias.

Esta conclusión toma fuerza al revizar los resultados de los 20 pacientes sanos en quienes se realizaron las pruebas inmunológicas. En estos pacientes sin antecedentes de importancia ni factores de riesgo, se encontró una prevalencia del 35% de resultados positivos.

Considerando los resultados como colonizaciones, es importante destacar que los pacientes tienen un riesgo mayor de padecer una candidosis invasiva mientras mayor sea la colonización.

Los pacientes en la UCI del HC del CMN SXXI tienen un mayor riesgo al día 8 de estancia en la unidad, con una incidencia del 100%, comparada con la incidencia del 37% al día 8 en pacientes de su contraparte en el HE CMN SXXI. Ambas prevalencias son similares, difiriendo en la incidencia, aunque es necesario subrayar que la cantidad de pacientes del hospital de Especialidades que sobrepasaron el día 8 fue apenas de 8.

En cuanto a los factores de riesgo, difieren entre ambas unidades. Para el hospital de Cardiología encontramos una significancia estadística para el uso de antibióticos por más de tres días, sin embargo los intervalos de confianza incluyen el rango de baja asociación, al igual que la NPT. De los factores de riesgo, la nutrición enteral y el uso de sonda Foley cumplieron con los intervalos de confianza del 95% deseables y una p significativa. En el hospital de especialidades se identifica al uso de antibiótico y de antimicótico como factores de riesgo para presentar resultados positivos para manano en plasma. Se subraya el hecho de que los antimicóticos fueron utilizados posterior a una sospecha clínica y no como profilaxis, representando el riesgo asociado a los antimicóticos, la necesidad de usarlos y no precisamente su uso.

Ala analizar todos los datos en conjunto, se encuentra una fuerte asociación de fiesgo entre la mananemia y el uso de sonda foley, de 4.53, se incrementa la significancia estadística del uso de antimicóticos y se presenta también a la nutrición enteral como factor de riesgo.

10. Conclusiones

- Los estudios de hemocultivo tienen una baja sensibilidad, especialmente aquellos realizados de manera manual y con material casero.
- La prevalencia de colonización por *Candida* spp. es menor a la reportada en estudios de vigilancia.
- Los resultados de inmunología por el EIA Platelia Ag, no deben ser considerados de manera aislada para el diagnóstico de candidosis invasiva.
- Para la interpretación de un resultado de inmunología por el EIA Platelia Ag se deben realizar pruebas seriadas y valorarlas en conjunto.
- Dada la baja sensibilidad del hemocultivo para candidosis, y a la baja especificidad del EIA, se recomienda utilizar ambos, junto con los datos clínicos del paciente, para realizar el diagnóstico de candidosis invasiva.
- El uso de sonda Foley es la variable con mayor asociación de riesgo para desarrollar mananemias.

Consecutivo: _____



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES "DR. BERNARDO SEPÚLVEDA"
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN DERMATOLOGÍA Y MICOLOGÍA

Hospital: _____ Unidad: _____ Fecha: _____
Nombre: _____ Afiliación: _____
Edad: _____ Sexo: M F Diagnóstico principal: _____
Estancia hospitalaria: _____ días Estancia en UCI: _____ días
Tratamiento antifúngico: _____
Antibióticos de amplio espectro^{AB}: _____
Cuenta leucocitaria: _____ APACHE II: _____

Comorbilidades

Diabetes	SI	NO	Neoplasias	SI	NO
Cirrosis Hepática	SI	NO	EPOC severa	SI	NO
Falla renal aguda	SI	NO	Insuf. cardíaca	SI	NO
Alcoholismo*	SI	NO	Demencia severa	SI	NO
Drogas IV	SI	NO	Pancreatitis aguda	SI	NO

Procedimientos médicos invasivos

Catéter venoso central	SI	NO	Nutrición Enteral	SI	NO
Catéter arterial	SI	NO	Catéter urinario	SI	NO
Ventilación mecánica	SI	NO	Hemodíalisis	SI	NO
Nutrición Parenteral	SI	NO	Dialisis Peritoneal	SI	NO

Quirúrgicos y trasplantes:

Qx en el último mes:	SI	NO
Abdominal	SI	NO
Gastrointestinal Superior	SI	NO
Prótesis en el último año	SI	NO
Trasplante cols. madre	SI	NO
Trasplante órgano sólido	SI	NO

Tratamiento y transfusionales:

Inhibidores bomba de protones	SI	NO		
Corticosteroides: >20mg/día:	SI	NO		
Terapia inmunosupresora:	SI	NO	N/A	Especificar: _____
Quimioterapia:	SI	NO	N/A	Especificar: _____
Transfusión CE:	SI	NO		Cantidad: _____

Muestra tomada:

Hemocultivo	<input type="checkbox"/>	Fecha de toma: _____
Orina	<input type="checkbox"/>	Fecha de toma: _____
Sec. herida	<input type="checkbox"/>	Fecha de toma: _____
Punción Lumbar	<input type="checkbox"/>	Fecha de toma: _____

12. BIBLIOGRAFÍA

1. Garbino J, Kolarova L, Rohner P, Lew D, Pichna P, Pittet D. Secular trends of candidemia over 12 years in adult patients at a tertiary care hospital. *Medicine* 2002; 81:425-433.
2. Kullberg BJ, Oude Lashof AM. Epidemiology of opportunistic invasive mycoses. *Eur J Med Res* 2002; 7:183-191.
3. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: Analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004; 39:309-317.
4. Hajjeh RA, Sofair AN, Harrison LH, Lyon GM, Arthington-Skaggs BA, Mirza SA, Phelam M, Morgan J, Lee-Yang W, Ciblak MA, Benjamin LE, Sanza LT, Huie S, Yeo SF, Brandt ME, Warnock DW. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. *J Clin Microbiol* 2004; 42:1519-1527.
5. Wenzel RP: Nosocomial candidemia: Risk factors and attributable mortality. *Clin Infect Dis* 1995; 20:1531-1534.
6. Pappas PG, Rex JH, Lee J, Hamill RJ, Larsen RA, Powderly W, Kauffman CA, Hyslop N, Mangino JE, Chapman S, Horowitz HW, Edwards JE, Dismukes WE: A prospective observational study of candidemia: epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients. *Clin Infect Dis* 2003; 37:634-643.

7. Chow JK, Golan Y, Ruthazer R, Karchmer AW, Carmeli Y, Lichtenberg DA, Chawla V, Young JA, Hadley S: Risk factors for *Candida albicans* and non-albicans candidemia in the intensive care unit. Crit Care Med 2008; 36:1993-1998.
8. Ostrosky-Zeichner L, Pappas PG: Invasive candidiasis in the intensive care unit. Crit Care Med 2006; 34: 857-863.
9. De Waele JJ, Vogelaers D, Blot S, Colardyn F: Fungal infections in patients with severe acute pancreatitis and the use of prophylactic therapy. Clin Infect Dis 2003; 37:208-213.
10. Snyderman DR: Shifting patterns in the epidemiology of nosocomial *Candida* infections. Chest 2003; 123:500-503.
11. Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM: Septic Shock. Lancet 2005;365:63-78.
12. Ortega M, Marco F, Soriano A, Almela M, Martinez JA, Lopez J, Pitart C, Mensa J: *Candida* species bloodstream infection: epidemiology and outcome in a single institution from 1991 to 2008. J Hosp Infect 2011: 77:157-161.
13. Pasqualotto AC, Nedel WL, Machado TS, Severo LC: A comparative study of risk factors and outcome among outpatient-acquired and nosocomial candidemia. J Hosp Infect 2005; 60:129-134.
14. Miranda LN, van der Heijden IM, Costa SF, Sousa API, Sienra RA, Gobara S, Santos CR, Lobo RD, Pessoa AS, Levin AS: *Candida* colonisation as a source for candidemia. J Hosp Infect 2009; 72:9-16.

15. Passos XS, Sales WS, Maciel PJ, Rodriguez C, Carvalho K, Lemos JA, Batista MA, Rodriguez MR: *Candida* colonization in intensive care unit patients urine. Mem inst Oswaldo Cruz 2005; 100: 925-928.
16. Morgan J, Meltzer MI, Plikaytis BD, Sofair AN, Huie-White S, Wilcox S, Harrison LH, Seaberg EC, Hajjeh RA, Teutsch SM: Excess mortality, hospital stay and cost due to candidemia: A case-control study using data from population-based candidemia surveillance. Infection Control and Hospital Epidemiology 2005; 26: 540-547.
17. Chávez-García A, Cabrera Rayo A, Marín Romero MC, Villagomez Ortiz A, Méndez Reyes R, Guzmán Gómez R, Laguna Laguna Hernández G: Incidencia y pronóstico de candidiasis invasiva en pacientes no neutropénicos de terapia intensiva. Medicina Interna de México, 2006; 22:S212-S213.
18. Cisterna R, Ezpeleta G, Telleria O, Guinea J, Regueiro B, García Rodríguez J, Esperalba J and The Spanish Candidemia Surveillance Group: Nationwide Sentinel Surveillance of Bloodstream *Candida* Infections in 40 Tertiary Care Hospitals in Spain. J Clin Microbiol 2010; 48:4200-4206.
19. Sendid B, Tabouret M, Poirot JL, Matieu D, Fruit J, Poulain DM. New enzyme immunoassays for sensitive detection of circulating *Candida albicans* mannan and antimannan antibodies: useful combined test for diagnosis of systemic candidiasis. J. Clin. Microbiol 1999; 37:1510–1517
20. 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 2007; 7:103-112.

21. Kett DH, Azoulay E, Echevarria PM, Vincent JL. Candida bloodstream infections in intensive care units: Analysis of the extended prevalence of infection in a intensive care unit study. *Crit Care Med* 2011; 39:1-6
22. Horn DL, Fishman JA, Steinbach WJ, Anaissie EJ, Marr KA, Olyaei AJ, et al. Presentation of the PATH Alliance registry for prospective data collection and analysis of the epidemiology, therapy, and outcomes of invasive fungal infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2007; 59:407– 414
23. Tortorano AM, Caspani L, Rigoni AL, Biraghi E, Sicignano A, Viviani MA. Candidosis in the intensive care unit: a 20-year survey. *J Hosp Infect* 2004; 57:8-13
24. Sendid B, Caillot D, Baccouch-Humbert B, 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* 2003; 41: 4551-4558
25. Oliveri S, Trovato L, Betta P, et al. Experience with the Platelia Candida ELISA for the diagnosis of invasive candidosis in neonatal patients. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 391-393
26. Rimek D, Singh J, Kappe R, et al. Cross-reactivity of the PLATELIA CANDIDA Antigen Detection Enzyme Immunoassay with Fungal Antigen Extracts. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 3395-3398
27. Hernández-Hernández F, Córdova-Martínez E, Manzano-Gayoso P, López-Álvarez R, Bazán-Mora E, López-Martínez R. Frecuencia de Micosis en Pacientes Inmunosuprimidos de un Hospital Regional de la Ciudad de México. *Salud Publica Mex* 2003; 45 (6): 455-60.
28. Arredondo-García JL, Amábile-Cuevas CF, and the RedMic2 Study Group. Susceptibility of Mexican isolates of yeasts and moulds to amphotericin B and triazole antifungals; *J Infect Dev Ctries* 2009; 3 (5): 398-401.

29. Sendid, B, Tabouret, J, Poirot D, Mathieu J, Poulain D. New enzyme immunoassays for sensitive detection of circulating *Candida albicans* mannan and antimannan antibodies: useful combined test for diagnosis of systemic candidiasis. *J. Clin. Microbiol* 1999; 37:1510–1517.

30. Martinez JP, Gil ML, Lopez JL, LaJean W. Serologic response to cell wall mannoproteins and proteins of *Candida albicans*. *Clin. Microbiol. Rev* 1999; 11:121–141.