



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA  
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO  
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

*UTILIDAD DEL ANTIGENO MANANO COMO BIOMARCADOR PARA  
CANDIDEMIA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS UTILIDAD DEL  
ANTIGENO MANANO COMO BIOMARCADOR PARA CANDIDEMIA  
EN PACIENTES PEDIÁTRICOS*

**T E S I S**

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE  
ESPECIALISTA EN:**

**INFECTOLOGÍA PEDIÁTRICA**

**P R E S E N T A**

**DRA. ALMUDENA LARIS GONZÁLEZ**



**DIRECTOR DE TESIS:**

Dra. Martha Avilés Robles, Departamento de Infectología

**DIRECTOR METODOLÓGICO:**

Dr. Sarbelio Moreno Espinosa, Departamento de Infectología  
Dr. Alfonso Reyes López, Jefe del Centro de Estudios Económicos y  
Sociales en Salud

Febrero 2015



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 FIRMAS**

**DRA. REBECA GÓMEZ CHICO VELASCO  
DIRECTORA DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO**

A handwritten signature in black ink, consisting of a large circle followed by several loops and a long horizontal stroke extending to the right.

**DR. SARBELIO MORENO ESPINOSA  
JEFE DEL DEPARTAMENTO DE INFECTOLOGÍA**

A handwritten signature in black ink, featuring a large, stylized letter 'M' followed by a long horizontal stroke.

**DRA. MARTHA AVILÉS ROBLES  
MEDICO ADSCRITO AL DEPARTAMENTO DE INFECTOLOGÍA**

## **ÍNDICE**

<b>Marco teórico</b>	<b>3</b>
<b>Planteamiento del problema</b>	<b>12</b>
<b>Justificación</b>	<b>12</b>
<b>Objetivos</b>	<b>13</b>
<b>Hipótesis</b>	<b>13</b>
<b>Metodología</b>	<b>13</b>
<b>Resultados</b>	<b>16</b>
<b>Discusión</b>	<b>20</b>
<b>Conclusiones</b>	<b>21</b>
<b>Bibliografía</b>	<b>23</b>
<b>Anexos</b>	<b>25</b>

## MARCO TEÓRICO

### Introducción

En 1861, Zenker describió el primer caso bien documentado de candidiasis profunda. Sin embargo, fue con el empleo extendido de antimicrobianos, a partir de la década de 1940, que la incidencia de infección por *Candida* -en todas sus formas- aumentó de forma abrupta.

En décadas recientes, la incidencia de infecciones fúngicas ha aumentado de manera significativa, así como la morbilidad, mortalidad y costos asociados a las mismas (1). Las especies de *Candida* son causantes de infecciones tanto mucocutáneas como profundas y constituyen el patógeno fúngico más importante para el ser humano. Son implicadas de manera cada vez más frecuente en infecciones de adquisición intrahospitalaria, y constituyen actualmente uno de los aislamientos más frecuentes en hemocultivos en los países desarrollados (EUA) (1,2).

El empleo cada vez mayor de antibióticos de amplio espectro y medicamentos inmunosupresores, así como de dispositivos protésicos, catéteres intravasculares, procedimientos quirúrgicos y otras formas de invasión, han contribuido al incremento en la incidencia de las infecciones por *Candida* (3). Por lo tanto, no es de sorprenderse que las infecciones graves por *Candida spp* predominen en centros hospitalarios de tercer nivel y particularmente en unidades de cuidados intensivos (6).

### Microbiología

Las especies de *Candida* son hongos levaduriformes que existen predominantemente en forma unicelular. Están constituidas por células ovoideas, de 4 a 6 micras de diámetro, que se reproducen por gemación (3). No requieren medios de cultivo especiales para su aislamiento, ya que crecen adecuadamente en placas de agar y en botellas de hemocultivo, y su detección puede acelerarse con el uso de métodos automatizados. *Candida* forma colonias redondas, lisas, brillantes, color blanco o crema, que pueden parecerse a las formadas por *Staphylococcus spp*.

*Candida* spp adopta formas filamentosas (hifas, pseudohifas) en los tejidos, pudiendo observarse éstas en los especímenes clínicos. La visualización de *Cándida* spp en muestras clínicas puede facilitarse con el uso de hidróxido de potasio que elimina las células epiteliales, o con tinciones como Gram o calcoflúor, requiriendo ésta última el uso de microscopio de fluorescencia (3).

Existen más de 150 especies de *Candida*, pero sólo una pequeña proporción de ellas son patógenos frecuentes para el ser humano: *C. albicans*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis* y *C. glabrata*. *C. dubliniensis* es una especie de reciente descripción, la cual había sido incluida previamente dentro de la especie *C. albicans*. Sin embargo, hasta el momento no se han descrito diferencias significativas en patogenicidad entre ambas.

Si bien *C. albicans* es el agente más frecuente de candidiasis en el ser humano, la incidencia e importancia de la infección por otras especies de *Cándida* ha ido en incremento en las últimas tres décadas(4).

Ya que la patogenicidad y resistencia a los antifúngicos son distintas entre ellas, es conveniente la identificación de especie en los casos de candidiasis invasora.

Una forma rápida de diferenciar de modo preliminar a *Candida albicans* de otras levaduras, consiste en colocar una muestra de las colonias en suero en búsqueda de la formación de tubos germinales, que se observan como una pequeña prolongación filamentososa proveniente de la célula levaduriforme, sin constricción en el punto de origen. *Candida dubliniensis* también es capaz de formar tubos germinales (5).

El resto de los procedimientos de identificación y especiación de *Candida* se basan primordialmente en parámetros fisiológicos más que en características morfológicas, incluyendo pruebas como la asimilación y fermentación de carbohidratos, uso de nitratos y producción de ureasa (3).

### Epidemiología

*C. albicans* ha sido aislada a partir de muestras de tierra, animales, objetos inanimados y alimentos. Es muy rada su participación como contaminante en laboratorios.

Estos organismos son comensales naturales de los seres humanos y se pueden encontrar frecuentemente en piel, cavidad oral, vagina y a lo largo del tracto gastrointestinal. También puede encontrarse de forma habitual en muestras de esputo y en la orina de pacientes con sondas urinarias (3).

La mayoría de infecciones por *Candida spp* son endógenas. Sin embargo, la transmisión entre humanos también es posible, y la infección por *Candida* puede adquirirse a partir del medio hospitalario.

En países desarrollados, *Candida* se ha convertido en uno de los principales agentes aislados en sangre en los casos de infección nosocomial. Más de la mitad de los casos se presentan en unidades de cuidados intensivos y en casi todos los pacientes con candidiasis invasora puede identificarse uno o más factores de riesgo para la misma (6).

Entre los factores de riesgo descritos podemos destacar los siguientes (7,8):

- Estancia prolongada en la unidad de cuidados intensivos.
- Empleo de antibióticos de amplio espectro
- Catéter venoso central
- Nutrición parenteral
- Insuficiencia renal, hemodiálisis
- Uso de fármacos inmunosupresores
- Cáncer y quimioterapia
- Colonización por *Candida*
- Antecedente de cirugía abdominal
- Transplante de órgano sólido o de células madre hematopoyéticas
- Recién nacidos prematuros o con baja calificación de Apgar

Las infecciones por *Candida* representan un reto significativo para los sistemas de salud, dada su frecuencia creciente y el incremento en mortalidad, tiempo de hospitalización y costos que representan (1).

Por otro lado, en años recientes, una mayor proporción de candidemias han sido ocasionadas por especies distintas a *Candida albicans* (7), siendo las más frecuentes *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*, la cual con frecuencia es resistente a azoles. Este cambio en la epidemiología también ha sido descrito en países latinoamericanos, como Brazil y Chile (1).

Este cambio ha sido propiciado por muchos factores, pero entre los más importantes se encuentran la administración de profilaxis antifúngica en ciertos grupos de pacientes y el empleo más frecuente de catéteres intravasculares de larga permanencia (6).

### Fisiopatogenia

Hay tres componentes principales en la fisiopatogenia de la candidiasis invasora, incluyendo: 1) un incremento en la carga de levaduras colonizantes, debido usualmente al empleo de antibióticos de amplio espectro, 2) la lesión de la barrera cutánea o mucosa secundaria, por ejemplo, al uso de catéter intravasculares, cirugía, trauma o mucositis grave, 3) compromiso del sistema inmunológico (por ejemplo, neutropenia), lo que permite la diseminación y proliferación en tejidos profundos (6).

*Candida* es capaz de adherirse al epitelio de la cavidad oral, tubo digestivo y vagina, al endotelio, fibronectina, linfocitos, coágulos de plaquetas y fibrina, así como a una serie de materiales artificiales de plástico y acrílico (6). Se ha observado que *Candida* desarrolla características fenotípicas y genotípicas únicas cuando forma parte del biofilm de catéteres intravasculares u otros materiales protésicos (9).

Todos los componentes del sistema inmunológico están involucrados en el control de las infecciones fúngicas. Los linfocitos son esenciales en el desarrollo de la inmunidad celular a *Candida* spp y en la prevención de la candidiasis mucosa. Los individuos con deficiencias cualitativas o cuantitativas en los linfocitos T tienden a presentar candidiasis mucocutánea recurrente o persistente, pero raramente enfermedad invasora. Las células polimorfonucleares y los monocitos destruyen a las pseudohifas y las blastosporas. Los pacientes con neutropenia o disfunción significativa en la función de los neutrófilos son propensos a sufrir candidiasis invasora y candidemia. Las inmunoglobulinas y el complemento están implicados en la opsonización y eliminación de los microorganismos, y su deficiencia se asocia con enfermedad complicada o refractaria. Sin embargo, independientemente de la importancia de la función inmunológica del individuo, los factores iatrogénicos son los más influyentes en la génesis de la candidiasis invasora (6).

La patogenicidad de *Candida* spp es atribuida a ciertos factores de virulencia, entre los que destacan la habilidad para evadir las defensas del hospedero, la capacidad de adherencia, la

producción de biofilms tanto en tejidos como en material protésico, y la producción de enzimas que lesionan los tejidos, como proteasas, fosfolipasas y hemolisinas (1).

### Candidiasis invasora

El término “candidiasis invasora” abarca una amplia variedad de procesos graves ocasionados por este hongo, incluyendo la candidemia, candidiasis diseminada, endocarditis, meningitis, endoftalmitis y otras formas de involucro a órganos profundos. De este modo se excluyen las infecciones más leves y superficiales, como las formas mucocutáneas de candidiasis (6).

Los grupos de pacientes más propensos a sufrir candidiasis invasora son los que sufren enfermedades neoplásicas (especialmente leucemias agudas) y reciben quimioterapia, los pacientes quemados, los recién nacidos de bajo peso y los receptores de trasplante de órganos, así como aquellos con estancia prolongada en unidades de cuidados intensivos o con un postoperatorio complicado, especialmente tras cirugía cardíaca o gastrointestinal (3).

La candidemia es la manifestación de candidiasis invasora más frecuentemente reconocida, presentándose en 50 a 70% de los pacientes. La detección de *Candida* en hemocultivo nunca debe tomarse como contaminante, y amerita tomar medidas de manera inmediata, incluyendo el inicio de terapia antifúngica y el retiro de accesos venosos centrales si están presentes. Cabe destacar que los pacientes con candidemia representan un amplio espectro clínico, desde aquellos con candidemia autolimitada asociada a colonización de accesos vasculares, hasta aquellos con sepsis grave, e involucro de múltiples órganos. Sin embargo, dada la alta mortalidad del padecimiento, y la dificultad para distinguir clínicamente a los pacientes que presentarán una evolución grave o complicada, la mayoría de autoridades recomiendan brindar tratamiento antifúngico en todos los casos de candidemia (6).

Cuando *Candida* se disemina suele involucrar múltiples órganos, siendo los más frecuentes los riñones, el cerebro, el miocardio y los ojos, así como el hígado y el bazo en pacientes oncológicos. Otros órganos afectados con menor frecuencia incluyen los pulmones, el tracto gastrointestinal, la piel y las glándulas endócrinas. La afección patológica de los tejidos afectados se caracteriza por microabscesos difusos con inflamación supurativa aguda y reacción granulomatosa combinadas, así como algunos macroabscesos (3).

La candidiasis diseminada aguda se observa más frecuentemente en pacientes con neutropenia secundaria a quimioterapia citotóxica, usualmente en el contexto de una neoplasia hematológica. La mayoría de estos pacientes cursan con candidemia, se encuentran gravemente enfermos y pueden tener involucro y falla multiorgánicas. Es frecuente la aparición de una erupción cutánea eritematosa o hemorrágica, palpable, que refleja una vasculitis de vasos pequeños(6).

La candidiasis diseminada crónica o candidiasis hepatoesplénica se presenta de forma casi exclusiva en pacientes que reciben quimioterapia mieloablativa y que cursaron con candidiasis invasora durante el período de neutropenia. Al presentar recuperación medular, estos pacientes presentan típicamente fiebre de bajo grado y dolor en hipocondrio derecho, asociado frecuentemente a hepatoesplenomegalia y elevación de fosfatasa alcalina. Los estudios de imagen (tomografía computada o ultrasonido abdominal) revelan múltiples lesiones focales en el hígado, bazo y riñones (6).

#### Diagnóstico de candidiasis invasora

El diagnóstico de la candidiasis invasora es complicado, dada la ausencia de signos o síntomas específicos y la dificultad para diferenciar colonización de infección. Por otro lado, la alta mortalidad que conlleva dicho padecimiento, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, hace muy importante su reconocimiento y manejo oportunos. La tasa mortalidad cruda en pacientes con candidiasis invasora ha sido estimada en 40-75%, y la directamente atribuible a candidemia en 25-38% (10).

El diagnóstico convencional de la candidiasis invasora, que incluye la demostración de la invasión tisular por el hongo y su cultivo en localizaciones corporales habitualmente estériles, presenta una sensibilidad baja y a menudo requiere procedimientos invasores que no pueden realizarse en muchos de los pacientes con sospecha de la entidad. Como consecuencia de esto, el tratamiento antifúngico suele iniciarse de manera tardía, lo que influye de forma determinante en la mortalidad (10,11). Kumar et al. demostraron un incremento en la mortalidad de 12% por cada hora de retraso en el inicio de tratamiento antimicótico en pacientes con sepsis fúngica y choque (12). Así mismo, Morell et al. mostraron que la administración de antifúngicos más de 12 horas tras el primer hemocultivo positivo, incrementa de manera significativa el riesgo de mortalidad (13).

Se han desarrollado distintas estrategias con el fin de evitar el retraso en la instauración del tratamiento antimicótico de los pacientes con candidiasis invasora.

El lapso de tiempo entre el inicio de una infección fúngica y la aparición de signos y síntomas clínicos representa una ventana de oportunidad para el inicio de tratamiento de manera temprana (10). El tratamiento anticipado, por lo tanto, se basa en la administración de antifúngicos tras la detección de marcadores biológicos y de imagen que anteceden a la aparición de manifestaciones clínicas específicas y al diagnóstico definitivo de una micosis invasora (11).

### Métodos microbiológicos convencionales

El examen microscópico directo es un procedimiento de primera línea para la detección de elementos fúngicos en las muestras clínicas. Se trata de un medio rápido y costo-efectivo para el diagnóstico de las micosis. El uso de hidróxido de potasio al 10-20% y de blanco calcoflúor (que se une a la quitina de la pared del hongo y ocasiona fluorescencia) facilitan la detección de formas fúngicas mediante microscopía directa. Sin embargo, estos métodos son menos sensibles que el cultivo y un resultado negativo no descarta la infección micótica (10).

Por otro lado, aunque se han logrado avances significativos en la detección de candidemia, la sensibilidad de los hemocultivos sigue siendo relativamente baja. Sólo 50% de los pacientes con candidiasis invasora tendrá hemocultivos positivos para dicho microorganismo, aun con los métodos automatizados más sensibles. Ya que el número de levaduras circulantes suele ser bajo, el volumen de sangre inoculado es esencial para mejorar las probabilidades de aislamiento, y debe ser entre 8 y 10ml por vial. Tras el aislamiento, la identificación de la mayoría de levaduras se realiza con base en la asimilación y/o fermentación de carbohidratos, así como en las características morfológicas tras el crecimiento en medios de cultivo especializados. El uso de CHROMagar permite la identificación presuntiva de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* en un tiempo menor que con otros métodos (10).

## Nuevos marcadores biológicos de candidiasis invasora

Actualmente, los marcadores biológicos de interés diagnóstico son el antígeno manano, el  $\beta$ -1,3-D-glucano, algunos anticuerpos (como el dirigido contra el antígeno manano y los anticuerpos frente al tubo germinal de *Candida*) y la detección de ADN mediante reacción en cadena de polimerasa. Estas nuevas técnicas diagnósticas deben utilizarse en conjunto con los estudios de imagen apropiados, así como métodos microbiológicos e histológicos convencionales, con el fin de mejorar el pronóstico de los pacientes con candidiasis invasora.

### Antígeno manano de *Candida*

El manano es uno de los componentes principales de la pared celular de *Candida spp*, representando el 7% de su peso seco, y es uno de los principales antígenos circulantes durante la infección invasora por este hongo. Los métodos desarrollados para la detección del antígeno manano en suero incluyen la aglutinación en látex y los ensayos inmunoenzimáticos (14).

Los principales estudios que se han realizado en torno a la detección del antígeno manano en pacientes con candidiasis invasora, se han llevado a cabo con la prueba Platelia *Candida* Ag (Laboratorios Bio-Rad), la cual se basa en un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) que detecta residuos de oligomanosa unidos por enlaces  $\alpha$  del manano (11).

El antígeno manano tiene una gran capacidad para generar la formación de anticuerpos con los que forma complejos inmunes en la circulación. La liberación del manano de los inmunocomplejos que forma con los anticuerpos es probablemente el paso más crítico de la prueba de detección y, junto con la transitoriedad de la mananemia, son la causa de la sensibilidad relativamente baja de la prueba, que suele estar entre el 40 y 70% (11,16, 17, 18, 19) si se realiza una única determinación. Un aumento de la sensibilidad diagnóstica de la detección de manano puede obtenerse al complementar la prueba con la detección de residuos de manosa unidos por enlaces  $\beta$ , ya que ambos antígenos tienen cinéticas de aclaramiento distintas (11). De acuerdo a un estudio realizado por Sendid et al. la detección combinada de ambos antígenos alcanzó una sensibilidad de 90% y una especificidad de 95% con alto valor predictivo negativo (15).

Varios estudios prospectivos y retrospectivos han evaluado la utilidad este marcador biológico para el diagnóstico de candidiasis invasora en pacientes oncohematológicos o en unidades de cuidados intensivos, encontrando una sensibilidad global del 58% y especificidad del 93% de acuerdo a la revisión realizada por el grupo de la Tercera Conferencia Europea en Infecciones en Leucemia (14). La sensibilidad varía con la especie de *Candida*, siendo mayor para los casos de infección por *C. albicans* (18). La positividad de la prueba se presenta varios días antes de la positividad de los cultivos (un promedio de 6 días) o de los estudios de imagen sugestivos de candidiasis diseminada (promedio 16 días), lo que permite un inicio mas temprano del tratamiento (14,18). El promedio de días En pacientes de alto riesgo se recomienda repetir el estudio dos a tres veces por semana dado el carácter transitorio de la mananemia con cada episodio de candidemia (17).

#### Determinación combinada del antígeno manano de *Candida* y el anticuerpo contra dicho antígeno

De acuerdo a lo descrito desde hace más de una década, la mananemia se observa principalmente en ausencia de anticuerpos anti-manano (A-Mn) y los niveles altos de dichos anticuerpos no suelen asociarse con mananemia (19). Dado el balance observado entre la circulación del antígeno manano y la respuesta de los anticuerpos A-Mn, la medición de ambos mediante ensayo inmunoenzimático puede ser un procedimiento diagnóstico útil (14).

Sendid et al, empleando 162 muestras de 43 pacientes con candidiasis comprobada y 230 muestras de 150 controles, encontró una sensibilidad de 80% y especificidad de 93% con el uso combinado de ambos marcadores, en comparación con unos valores de sensibilidad y especificidad de 40 y 98% para la mananemia y 53 y 94% para la detección de anticuerpos A-Mn de manera aislada (19).

El estudio más utilizado y aceptado en la actualidad para la detección de los anticuerpos A-Mn es una prueba de ELISA conocida como Platelia *Candida* Antibody (Laboratorios Bio-Rad), del mismo fabricante del Platelia *Candida* Antigen que se emplea para la detección del antígeno manano (14).

De acuerdo a la revisión realizada por el grupo de la Tercera Conferencia Europea en Infecciones en Leucemia, la sensibilidad y especificidad global de los anticuerpos A-Mn se

calculó en 59 y 83% respectivamente, y la positividad de los anticuerpos se presentó en promedio 7 días antes que los aislamientos en cultivos. Por otro lado, la detección combinada de antígeno manano y anticuerpos A-Mn permitió un incremento en la sensibilidad hasta el 83%, manteniendo una especificidad de 86% (14). El grupo concluye que el desempeño del uso combinado del antígeno manano y los anticuerpos A-Mn es superior al empleo de cualquiera de los dos por separado.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

Las infecciones por *Candida spp* están implicadas de manera cada vez más frecuente en infecciones de adquisición intrahospitalaria y ocasionan una morbimortalidad sustancial. El diagnóstico de la candidiasis invasora es complicado, dada la ausencia de signos o síntomas específicos y la dificultad para diferenciar colonización de infección. Por otro lado, la alta mortalidad que conlleva dicho padecimiento, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, hace muy importante su reconocimiento y manejo oportunos. El lapso de tiempo entre el inicio de una infección fúngica y la aparición de signos y síntomas clínicos representa una ventana de oportunidad para el inicio de tratamiento de manera temprana. La sensibilidad de los hemocultivos para el aislamiento de *Candida spp* es baja, entre 50 y 70%. En los últimos años se han desarrollado marcadores biológicos para el diagnóstico temprano de infección por *Candida spp*, incluyendo el antígeno manano, para el cual se ha reportado una sensibilidad 40 a 70% y una especificidad entre 91 y 94%. Con lo anterior, nos planteamos la siguiente pregunta de investigación:

¿Cuál es la utilidad del antígeno manano como biomarcador de candidemia en pacientes pediátricos hospitalizados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG)?

## **JUSTIFICACIÓN**

Los estudios basados en biomarcadores de la pared de *Candida*, incluyendo la detección del antígeno manano, se han desarrollado para ayudar en el diagnóstico de candidiasis invasora. Estos ofrecen la ventaja de ser fáciles y seguros de utilizar, evitan procedimientos diagnósticos invasivos y permiten realizar un diagnóstico oportuno. La adopción de estos estudios de

biomarcadores está cambiando el enfoque del diagnóstico de la candidiasis invasora. Sin embargo, en población pediátrica existe escasa información sobre el desempeño de esta prueba. Por lo anterior es necesario evaluar la correlación clínica y utilidad del antígeno manano de *Candida* para el diagnóstico de candidiasis invasora ya que al realizar un diagnóstico oportuno, se podría disminuir la morbilidad del paciente pediátrico con candidemia.

## **OBJETIVO GENERAL**

Evaluar el desempeño de la medición del antígeno manano de *Candida* en pacientes pediátricos con sospecha de candidiasis invasora del HIMFG.

## **OBJETIVOS PARTICULARES**

Evaluar mediante curvas ROC los diferentes puntos de corte del antígeno manano de *Candida*.  
Describir las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con sospecha de candidemia hospitalizados en el HIMFG.

## **HIPÓTESIS**

El antígeno manano es útil para la detección temprana de candidemia en pacientes pediátricos del HIMFG.

## **METODOLOGÍA**

### 1. Diseño del estudio

Estudio retrolectivo de prueba diagnóstica.

### 2. Lugar de estudio

Hospital Infantil de México Federico Gómez

### 3. Período de estudio

1 de enero de 2013 a 31 de diciembre de 2013.

### 4. Población de estudio

Pacientes pediátricos con sospecha de candidemia.

#### Criterios de inclusión:

- Pacientes de 0 a 18 años de edad.
- Pacientes con sospecha clínica de candidemia.
- Pacientes con resultados de hemocultivo y antígeno manano de *Candida* en las primeras 48 horas a partir de la sospecha clínica.

#### Criterios de exclusión:

- Pacientes que no contaban con ambas pruebas diagnósticas.
- Pacientes con sospecha de infección micótica distinta a *Candida spp.*
- Pacientes con profilaxis antimicótica o que habían recibido tratamiento antifúngico en las 2 semanas previas a la sospecha de candidemia.
- Pacientes con expediente incompleto o inconsistencias en el nombre o número de identificación en los registros de hemocultivos o antígeno manano.

#### Definición de sospecha de candidemia

-Sospecha de candidemia: Fiebre que no respondió a 4 días de tratamiento antimicrobiano de amplio espectro, además de 3 o más factores de riesgo de los siguientes: hospitalización prolongada (>2 semanas), aislamiento de *Candida spp* de uno o más sitios estériles, presencia de catéter o línea intravascular, procedimiento quirúrgico reciente, inmunosupresión (20).

#### VARIABLES OBTENIDAS

- Edad: Tiempo transcurrido a partir del nacimiento, en meses. Variable cuantitativa, continua. Medida en años.
- Género: Características fenotípicas que clasifican a un individuo como hombre o mujer. Variable cualitativa, dicotómica. Expresada como hombre o mujer.
- Diagnóstico de base: Diagnósticos crónicos previos al evento infeccioso agudo. Variable cualitativa, politómica.

- Diagnóstico infeccioso: Condiciones clínicas de origen probablemente infeccioso, al momento de la sospecha de candidiasis. Variable cualitativa, politómica.
- Sala de hospitalización: Unidad del Hospital Infantil de México Federico Gómez en la que se encontraba hospitalizado el paciente al momento de la sospecha de candidiasis. Variable cualitativa, politómica.
- Fiebre: Temperatura mayor o igual a 38°C por al menos una hora o determinación aislada de temperatura mayor o igual a 38.3°C documentada en los registros de enfermería. Variable cualitativa, dicotómica.
- Taquicardia: Frecuencia cardiaca por arriba de la percentila 95 para la edad, de manera sostenida, documentada en los registros de enfermería. Variable cualitativa, dicotómica.
- Hipotensión: Cifras de tensión arterial por debajo de la percentila 5 para la edad documentadas en los registros de enfermería. Variable cualitativa, dicotómica.
- Candidemia: Aislamiento de *Candida spp.* a partir de uno o más hemocultivos obtenidos durante las primeras 48 horas de la sospecha. Variable cualitativa, dicotómica.
- Días de estancia hospitalaria: Número de días transcurridos desde el ingreso al Hospital Infantil de México Federico Gómez hasta el egreso a domicilio o el fallecimiento. Variable cuantitativa, discreta. Medida en días.
- Antibióticos en las 3 semanas previas: Número de fármacos antimicrobianos distintos, administrados en los 21 días previos a la sospecha de candidemia, de acuerdo a lo registrado en el expediente clínico. Variable cuantitativa, discreta.
- Catéter venoso central: Presencia de dicho dispositivo invasivo al momento de la sospecha de candidemia o en los 7 días previos. Variable cualitativa, dicotómica.
- Intubación orotraqueal: Ventilación a través de cánula orotraqueal al momento de la sospecha de candidemia o en los 7 días previos. Variable cualitativa, dicotómica.
- Estancia en la terapia intensiva: Hospitalización en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos del Hospital Infantil de México al momento del diagnóstico o en los 14 días previos. Variable cualitativa, dicotómica.
- Nutrición parenteral: Administración intravenosa de nutrición parenteral al momento de la sospecha de candidemia o en los 7 días previos. Variable cualitativa, dicotómica.
- Cirugía mayor en las dos semanas previas: Realización de procedimiento quirúrgico con necesidad de anestesia general o regional en los 14 días previos a la sospecha de candidemia. Variable cualitativa, dicotómica.
- Quimioterapia: Administración de fármacos citotóxicos para tratamiento de alguna neoplasia maligna en los 30 días previos a la sospecha de candidemia. Variable cualitativa, dicotómica.

Inmunosupresores: Administración de fármacos que atenúan de manera significativa la función del sistema inmune (excepto glucocorticoides) en los 30 días previos a la sospecha de candidemia. Variable cualitativa, dicotómica.

- Glucocorticoides: Administración de fármacos de estructura esteroidea, análogos al cortisol, en los 30 días previos a la sospecha de candidemia. Variable cualitativa, dicotómica.

- Muerte: Defunción documentada en el expediente, ocurrida durante el internamiento en el cual se presentó la sospecha de candidemia. Variable cualitativa, dicotómica.

### Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva, mediante medidas de tendencia central para las variables numéricas, y frecuencias absolutas y relativas para las categóricas.

El análisis de la prueba diagnóstica se realizó mediante el cálculo de la curva ROC para definir el valor de la determinación del antígeno manano de *Candida spp.* con el cual se obtiene el mejor desempeño en términos de sensibilidad y especificidad, tomando como referencia el estándar de oro (hemocultivo).

Se realizó estadística inferencial bivariada, mediante tablas de contingencia y el cálculo del estadístico  $\chi^2$  para variables categóricas, mientras que para las numéricas se empleó la prueba U de Mann-Whitney.

El análisis de factores de riesgo se realizó mediante un modelo de regresión logística binaria, donde la variable dependiente fue la presencia de candidemia corroborada; expresando los resultados de efecto mediante razones de momios e intervalos de confianza de 95%.

Se empleó el programa SPSS 20 para el análisis estadístico.

## **RESULTADOS**

A partir de los registros de hemocultivos y determinación de antígeno manano de *Candida*, se identificó a 174 pacientes en los que se realizaron ambas pruebas diagnósticas con menos de 48 horas de diferencia, en el período del 1 de enero de 2013 al 31 de diciembre de 2013. Se realizó la revisión de los expedientes clínicos correspondientes.

De estos pacientes, 82 fueron excluidos por las siguientes razones: 27 recibieron tratamiento antifúngico sistémico en las 2 semanas previas, 4 se encontraban bajo profilaxis con azoles, en 20 pacientes no existió sospecha fundada de candidemia, en 8 casos existieron inconsistencias entre el nombre y número de identificación de los pacientes, en 9 casos el expediente estaba incompleto o no se logró localizar, en 9 pacientes el antígeno manano no fue obtenido en las primeras 48 horas a partir de la sospecha de candidemia y en 5 casos existía una sospecha de micosis distinta a candidiasis.

Noventa y dos pacientes fueron incluidos en el análisis, de los cuales 60.9% (56/92) era del género masculino, con una edad promedio de 6 años (rango: recién nacido a 18 años). Sólo 1 paciente era previamente sano, el resto tenían enfermedades previas al evento infeccioso actual. El diagnóstico de base más frecuente fue leucemia aguda (21/92 leucemia linfocítica aguda y 4/92 con leucemia mieloide aguda), seguida de las cardiopatías congénitas (21/92), los tumores sólidos (20/92), genopatías (10/92), y hepatopatía crónica (8/92).

De los pacientes incluidos, 28.3% (26/92) se encontraban hospitalizados en la sala de oncología, 22.8% (21/92) en la unidad de terapia intensiva pediátrica, 18.5% (17/92) en las salas pediátricas de hospitalización, 8.7% (8/92) en la unidad de cuidados intensivos neonatales y una cantidad igual en la sala de urgencias. Seis pacientes se encontraban en la terapia quirúrgica, 5 en otras salas quirúrgicas y uno en nefrología.

### Candidemia

De acuerdo a los resultados de hemocultivo, 5 pacientes cursaron con candidemia corroborada. La identificación de especie y susceptibilidad a antimicóticos se realizó mediante el sistema Vitek I. En dos de los casos se identificó *Candida albicans* sensible a azoles y a anfotericina B, en 1 paciente *Candida tropicalis* multisensible. Uno de los aislamientos fue identificado como *Candida parapsilosis* sensible a azoles y a anfotericina B, y el restante como *Candida guilliermondii*, también multisensible.

### Características clínicas del episodio de sospecha de candidemia

La sospecha de candidemia se basó tanto en características clínicas, como en factores de riesgo y uso previo de antibióticos de amplio espectro sin mejoría. La característica clínica más frecuente al momento de la sospecha fue fiebre, la cual se documentó en 89% de los sujetos (82/92). Sesenta y un pacientes (66%) cursaron con taquicardia y veinticuatro (26%) con hipotensión. En trece sujetos (14%) se documentó hipotermia.

### Comparación de características clínicas y epidemiológicas entre ambos grupos

La tabla 1 muestra las características de los pacientes al momento de la sospecha, comparando a los pacientes con candidemia corroborada con aquellos sin aislamiento de *Candida spp.* en hemocultivo. En el análisis bivariado, sólo el número de días con intubación orotraqueal presentó diferencia estadísticamente significativa. El número de antibióticos también fue mayor en el grupo con candidemia, con un  $p=0.07$ .

Los resultados del modelo de regresión logística, muestran evidencia de que los días de intubación orotraqueal y el número de antibióticos empleados son factores de riesgo para candidemia en la población estudiada, controlando por el efecto de otras covariables reportadas previamente como factores de riesgo (Cirugía mayor, nutrición parenteral, administración reciente de quimioterapia o empleo de fármacos inmunosupresores), pero que en nuestro modelo no resultaron con un efecto estadísticamente significativo. En relación a las variables que sí tuvieron efecto estadísticamente significativo, las respectivas razones de momios permiten reconocer que:

- Por cada día adicional con intubación orotraqueal, se tiene un riesgo 1.26 mayor de candidemia (IC95% 1.05-1.51).
- Por cada antibiótico agregado al manejo en las semanas previas, el riesgo de candidemia es 6.05 veces mayor (IC 95% 1.16-31.3). Los resultados del modelo de regresión logística se encuentran consignados en la tabla 2.

Los intervalos de confianza de las razones de momios de las dos variables previamente analizadas, fueron estadísticamente significativos con un coeficiente de 95%.

La tabla 1 resume las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con candidemia corroborada en comparación con aquellos sin aislamiento de *Candida spp* en hemocultivo (ver anexo).

La tabla 2 muestra los resultados del modelo de regresión logística binaria, con la presencia de candidemia corroborada como variable dependiente (ver anexo).

#### Tratamiento del episodio de sospecha de candidemia

Los 5 pacientes que cursaron con candidemia corroborada recibieron antifúngico, uno de ellos anfotericina B de complejos lipídicos y el resto anfotericina B convencional.

En el caso de los sujetos con sospecha no corroborada de candidemia, 58/87 recibieron tratamiento antimicótico de forma empírica: 63.7% (37/58) recibieron anfotericina B convencional, 13.7% (8/58) anfotericina B de complejos lipídicos, 6.8% (4/58) fluconazol y 15.5% (9/58) recibieron más de un fármaco antifúngico.

#### Utilidad del antígeno manano como prueba diagnóstica

Los valores del antígeno manano de candida variaron entre 0 y 600 pg/ml. La media en el grupo con candidemia corroborada fue de 314.4 pg/ml (IC 95% 87-541.8), y en el grupo control 90.3 pg/ml (IC 95% 63.8-116.9), con una  $p=0,004$  de acuerdo a la prueba de U de Mann Whitney.

Se obtuvo la curva ROC, con un área bajo la curva 0,881. El punto de corte que permitiría la mejor exactitud de la prueba es 216 pg/ml, con una sensibilidad de 80% y especificidad de 89%. Tomando un punto de corte de 125 pg/ml, que es el que habitualmente se utiliza en nuestra Institución de acuerdo a la recomendación del fabricante, la especificidad baja a 70% sin una ventaja en términos de sensibilidad (Ver Figura 1 en Anexos).

## Desenlace

Durante la hospitalización en la que se presentó la sospecha de candidemia, fallecieron 2/5 pacientes (40%) del grupo de candidemia corroborada, y 17/87 (19.5%) en el grupo control ( $p=0.27$  por prueba exacta de Fisher). En ninguno de los casos se consignó candidemia como causa directa de la muerte.

La estancia hospitalaria promedio fue de 54.3 días (Desviación estándar 33.6 días), y fue similar entre ambos grupos: 61.6 días (IC 95% 1.3-121.9) en el grupo de candidemia corroborada y 53.9 días (IC 95% 46.8-60.9) en el grupo control.

## **DISCUSIÓN**

El diagnóstico oportuno y manejo adecuado de las infecciones fúngicas invasoras sigue siendo un reto para la práctica médica. En nuestro país, las características de las infecciones invasoras por *Candida* spp, así como las cuestiones relacionadas con su diagnóstico, han sido estudiadas de manera insuficiente, particularmente en la población pediátrica.

El pronóstico de los pacientes con candidemia depende en gran medida del inicio temprano de un tratamiento adecuado. Ya que el hemocultivo -que es el estándar de oro para el diagnóstico de candidemia- tiene una sensibilidad baja, son necesarias otras herramientas diagnósticas que permitan la instauración de un tratamiento oportuno.

De acuerdo a lo observado en este estudio, la determinación del antígeno manano de *Candida* constituye una prueba diagnóstica con una sensibilidad y especificidad buenas, si se elige un punto de corte que optimice la exactitud de la prueba, y consideramos que es necesario reconsiderar el punto de corte que actualmente se está tomando en cuenta en el laboratorio clínico de la Institución. Los valores predictivos varían de acuerdo a la probabilidad pre-prueba de candidemia, por lo que es importante tomar en cuenta el tipo de población que se está estudiando, y los factores de riesgo específicos para candidemia.

Por otro lado, cabe destacar que la duración de la intubación orotraqueal y el número de antibióticos empleados en las semanas previas mostraron un papel como factores de riesgo para

candidemia en la regresión logística. Esto es relevante ya que se trata de factores potencialmente modificables, esta información refuerza la importancia de minimizar los días de ventilación mecánica en la medida de lo posible, así como de evitar el empleo innecesario de antibióticos.

Entre las limitaciones del estudio, se encuentra su carácter retrospectivo, y lo heterogéneo de la población incluida, lo cual es un obstáculo para generalizar las conclusiones obtenidas, así como la gran cantidad de pacientes que fue necesario excluir por las razones ya descritas. Es importante mencionar que una proporción sustancial de pacientes habían recibido tratamiento antifúngico previo, lo cual puede afectar el desempeño de la prueba, por lo que fue necesario excluirlos, como se había planteado en la metodología. Otro motivo frecuente de exclusión fue la ausencia de una sospecha fundada de candidemia, lo que refleja el uso injustificado que en ocasiones se hace de las pruebas diagnósticas, las cuales tendrán un mejor desempeño si se solicitan buscando confirmar o descartar una sospecha basada en los factores de riesgo y características clínicas de los pacientes. Por otro lado, desconocemos si el volumen de los hemocultivos tomados fue el adecuado, pues un volumen insuficiente disminuiría la posibilidad de detectar candidemia.

## **CONCLUSIONES**

El antígeno manano de *Candida* parece ser un biomarcador útil para el diagnóstico de candidemia en nuestra población. Sin embargo, es necesario realizar nuevos estudios, con un número de pacientes que permita estratificar de acuerdo al diagnóstico y otras características de los sujetos estudiados para obtener conclusiones más firmes. Por otro lado, es necesario comparar esta prueba con otros biomarcadores propuestos para el diagnóstico de candidemia, como el  $\beta$ -D-glucano, los anticuerpos contra antígeno manano, y las técnicas de biología molecular, como la reacción en cadena de la polimerasa.

En la evaluación de dichas pruebas diagnósticas, será necesario tomar en cuenta no sólo la exactitud de las mismas, sino su aplicabilidad en nuestra población, incluyendo el precio, la disponibilidad y la velocidad con la que se obtienen resultados.

Por otro lado, al emplear una prueba diagnóstica que ha sido validada en poblaciones con características distintas a aquella con la que se quiere emplear, es conveniente reevaluar si el

punto de corte recomendado es el óptimo, pues en ocasiones puede encontrarse un nuevo punto de corte que mejore el desempeño del estudio.

No existe hoy en día ninguna prueba que sea útil en todos los casos de sospecha de candidemia o que pueda funcionar como estándar de oro en lugar del hemocultivo. Además, es probable que la incidencia de candidemia aumente conforme se incrementa la sobrevida de recién nacidos prematuros y de pacientes críticamente enfermos, que requieren atención en la unidad de cuidados intensivos, así como empleo de dispositivos invasivos y de antibióticos de amplio espectro. Todo esto hace aún más relevante la evaluación de los estudios diagnósticos para candidemia, que permitan afrontar de mejor maneja ésta complicación grave de los cuidados de salud.

## BILIOGRAFÍA

1. Sardi JC, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, Mendes Giannini MJ. Candida species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *J Med Microbiol*. 2013 Jan;62(Pt 1):10-24.
2. Pappas PG, Invasive candidiasis, *Infect Dis Clin North Am*. 2006 Sep;20(3):485-506.
3. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Elsevier (7<sup>a</sup> edición), pp. 3225-3240.
4. Sobel JD. The Emergence of Non-albicans Candida Species as Causes of Invasive Candidiasis and Candidemia. *Curr Infect Dis. Rep*. 2006;8:427-433
5. Duarte A; Marquez A; Araujo C, Pérez C. Modalities of the Germ Tube Test. *Rev. Soc. Ven. Microbiol*. [online]. 2009, vol.29, n.1, pp. 66-68. ISSN 1315-2556.
6. Pappas PG. Invasive candidiasis. *Infect Dis Clin North Am*. 2006;20:485-506.
7. Bouza E, Muñoz P. Epidemiology of candidemia in intensive care units. *Int J Antimicrob Agents*. 2008 Nov;32 Suppl 2:S87-91.
8. Saiman L, Ludington E, Pfaller M, et al. Risk factors for candidemia in Neonatal Intensive Care Unit patients. The National Epidemiology of Mycosis Survey study group. *Pediatr Infect Dis J*. 2000 Apr;19(4):319-24.
9. Shin JH, Kee SJ, Shin MG, et al. Biofilm production by isolates of Candida species recovered from nonneutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. *J Clin Microbiol* 2002;40:1244-8.
10. Pemán J, Zaragoza R. Current diagnostic approaches to invasive candidiasis in critical care settings. *Mycoses* 2009;53: 424-433
11. Pontón J. Utilidad de los marcadores biológicos en el diagnóstico de la candidiasis invasora. *Rev Iberoam Micol*. 2009;26(1):8-14
12. Kumar A, Roberts D, Wood KE et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 2006; 34: 1589-96.
13. Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the empiric treatment of Candida bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:3640-5.
14. Mikulska M, Calandra T, Sanguinetti M, Poulain D, Viscoli C; Third European Conference on Infections in Leukemia Group. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on

Infections in Leukemia. Crit Care. 2010;14(6):R222.

15. Sensid B, Jouault T, Coudriau R, et al. Increased sensitivity of mannanemia detection tests by joint detection of  $\alpha$ - and  $\beta$ - linked oligomannosides during experimental and human systemic candidiasis. J Clin Microbiol. 2004;42:164-171.
16. Alam FF, Mustafa AS, Khan ZU. Comparative evaluation of (1, 3)-beta-D- glucan, mannan and anti-mannan antibodies, and *Candida* species-specific snPCR in patients with candidemia. BMC infectious diseases 2007; 7:103.
17. Ahmad S, Khan Z. Invasive candidiasis: A review of nonculture-based laboratory diagnostic methods. Indian Journal of Medical Microbiology. 2012;30(3): 264-269
18. Prella M, Bille J, Pugnale M, et al. Early diagnosis of invasive candidiasis with mannan antigenemia and antimannan antibodies. Diagn Microbiol Infect Dis 2005;51:95-101
19. Sendid B, Tabouret M, Poirot JL, Mathieu D, Fruit 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.
20. Fasahat F Alam, Abu S Mustafa and Zia U Khan, [Comparative evaluation of \(1, 3\)- \$\beta\$ -D-glucan, mannan and anti-mannan antibodies, and \*Candida\* species-specific snPCR in patients with candidemia, BMC Infectious Diseases 2007, 7:103](#)

## ANEXOS

Tabla 1: Características clínicas y epidemiológicas de los pacientes con candidemia corroborada, en comparación con aquellos en los que no se aisló *Candida spp* en los hemocultivos. Se empleó la prueba de U de Mann-Whitney para las variables numéricas, y el estadístico  $\chi^2$  para variables categóricas.

<b>Característica</b>	<b>Pacientes sin candidemia (n=87)</b>	<b>Pacientes con candidemia (n=5)</b>	<b>P</b>
Edad, años	5.9	6.4	0.88
Días estancia hospitalaria, media (rango)	21.5 (1-85)	17.8 (9-22)	0.79
Número de antibióticos en las 3 semanas previas, media (IC 95)	2.5 (2.4-2.7)	3.2 (2.1 – 4.2)	0.07
Catéter venoso central	70% (61/87)	80% (4/5)	0.75
Intubación orotraqueal	42% (37/87)	80% (4/5)	0.12
Días con intubación orotraqueal, media (desviación estándar)	3.1 (5.6)	10.8 (9.8)	0.03
Estancia en terapia intensiva en las últimas 2 semanas	41% (36/87)	60% (3/5)	0.35
Nutrición parenteral	31% (27/87)	40% (2/5)	0.50
Quimioterapia en el último mes	46% (40/87)	40% (2/5)	0.58
Empleo de glucocorticoides	10% (9/86)	20% (1/5)	0.44
Inmunosupresores en el último mes	6% (5/87)	20% (1/5)	0.29
Cirugía mayor en las 2 semanas previas	18% (16/87)	20% (1/5)	0.64

Tabla 2: Resultados del modelo de regresión logística binaria, con la presencia de candidemia corroborada como variable dependiente.

<b>Covariables</b>	<b>Razón de Momios</b>	<b>Intervalo de confianza 95%</b>
Días con intubación orotraqueal	1.26	1.05 - 1.51
Número de antibióticos empleados en las 3 semanas previas	6.05	1.16 - 31.37
Cirugía mayor en las últimas 2 semanas	0.69	0.029 - 16.55
Catéter venoso central	0.22	0.006 - 8.17
Quimioterapia en el último mes	5.11	0.26 - 98.67
Inmunosupresores en el último mes	18.6	0.37 - 926.69

**Figura 1:** Curva ROC que muestra el desempeño del antígeno manano en el diagnóstico de candidemia en la población evaluada.

