



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE QUÍMICA

**"DIAGNÓSTICO DE FUNGEMIA MEDIANTE UN
SISTEMA AUTOMATIZADO, EN UN HOSPITAL DE
TERCER NIVEL"**

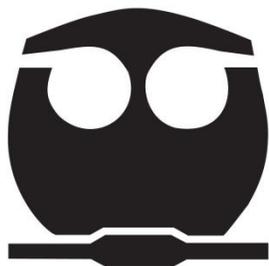
TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

ARACELY GONZÁLEZ REYES



MÉXICO, D.F.

2015



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor:** Gutiérrez Ramos Abel
VOCAL: **Profesor:** González Ibarra Misael
SECRETARIO: **Profesor:** Mirabal García Mónica
1er. SUPLENTE: **Profesor:** Camacho Cruz Alejandro
2º SUPLENTE: **Profesor:** Ruiz Villafán Beatriz

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Parasitología y Micología del Instituto Nacional de Pediatría

ASESOR DEL TEMA:

QFB/EBC Mónica Mirabal García

SUSTENTANTE:

Aracely González Reyes

ÍNDICE

ABREVIATURAS

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	3
2.2 OBJETIVOS	4
2.2.1 Objetivos generales	4
2.2.2 Objetivos particulares	4
2.3 JUSTIFICACIÓN	5
3. MARCO TEÓRICO	7
3.1 FUNGEMIA	7
3.1.1 Agentes etiológicos	8
3.1.1.1 Hongos levaduriformes	8
3.1.1.2 Hongos filamentosos	14
3.1.2 Factores de virulencia del agente patógeno	16
3.1.3 Factores de riesgo del hospedero	20
3.1.4 Manifestaciones clínicas	24
3.1.5 Tratamiento	27
3.1.5.1 Opciones terapéuticas	27
3.1.5.1.1 Triazoles	27
3.1.5.1.2 Derivados poliénicos	28
3.1.5.1.3 Equinocandinas	29
3.1.5.2 Tipos de tratamiento y recomendaciones	33
3.2 EL HEMOCULTIVO Y LOS SISTEMAS AUTOMATIZADOS COMO HERRAMIENTAS DE DIAGNÓSTICO	37
3.2.1 Obtención y conservación de la muestra	38

3.2.2	Proceso para el diagnóstico preliminar: sistema automatizado	42
3.2.3	Proceso para el diagnóstico definitivo: métodos convencionales complementarios	43
3.2.4	Interpretación y emisión del resultado	48
3.3	SISTEMA AUTOMATIZADO BD BACTEC™ 9120 Y MEDIO DE CULTIVO BACTEC™ MYCO/F LYTIC	48
3.3.1	Componentes del equipo y del medio de cultivo	48
3.3.2	Fundamento del sistema	50
3.3.3	Procedimiento de diagnóstico en el laboratorio de Parasitología y Micología del Instituto Nacional de Pediatría	52
4.	MATERIAL Y MÉTODOS	56
5.	RESULTADOS	65
6.	ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	84
7.	CONCLUSIONES	95
8.	PROPUESTAS DE MEJORA	98
9.	REFERENCIAS	99
10.	ANEXOS	107

ABREVIATURAS:

- * AB: Antibióticos
- * ADS: Agar Dextrosa de Sabouraud
- * AL: América Latina
- * Alo-TPH: Trasplante Alogénico de Precursores Hematopoyéticos
- * ATCC: American Type Culture Collection
- * CMV: Citomegalovirus
- * CO₂: Dióxido de Carbono
- * CVC: Catéter Venoso Central
- * EGC: Enfermedad Granulomatosa Crónica
- * EICH: Enfermedad Injerto Contra Huésped
- * EUA: Estados Unidos de América
- * FDA: Food and Drug Administration
- * HF: Hongos Filamentosos
- * HL: Hongos Levaduriformes
- * INP: Instituto Nacional de Pediatría
- * i. v.: vía intravenosa
- * LAL: Leucemia Aguda Linfoblástica
- * LAM: Leucemia Aguda Mieloide
- * NHD: No Hubo Desarrollo
- * RIS: Respuesta Inflamatoria Sistémica
- * RN: Recién Nacido
- * Saps: Aspartil-proteinasa secretora
- * TAMO: Trasplante Autólogo de Médula Ósea
- * TOS: Trasplante de Órgano Sólido
- * TPH: Trasplante de Precursores Hematopoyéticos
- * Tx: Tratamiento
- * UCI: Unidad de Cuidados Intensivos
- * UCIN: Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales
- * UTICV: Unidad de Terapia Intensiva Cardiovascular
- * UTIP: Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica
- * v. o.: vía oral

1. RESUMEN

Problema: ¿Cuál es la incidencia de las fungemias en la población del Instituto Nacional de Pediatría (INP), y las variables que intervienen y resultan fundamentales para su detección y diagnóstico? ¿Qué factores de riesgo están presentes en esta población, que predisponen a la adquisición de este tipo de micosis?

Objetivos generales: 1) Ofrecer información acerca de la incidencia de fungemia en la población del INP y de los factores de riesgo asociados a ésta, 2) Reforzar los criterios y la metodología para el manejo y proceso del hemocultivo

Material y métodos: Se trata de un estudio retrospectivo observacional realizado con datos de los hemocultivos tomados a pacientes pediátricos, y procesados mediante un sistema automatizado en el Laboratorio de Parasitología y Micología del INP. Parte de la información se comparó además con un estudio realizado en el mismo lugar, en el que se estudió la técnica manual empleada anteriormente.

Resultados: Respecto al estudio comparativo, con la técnica manual se reportó una positividad de 0.43%, mientras que con el sistema automatizado se obtuvo una positividad de 1.88%, en el primer caso se recuperaron cepas de *C. albicans*, *C. parapsilosis* e *Histoplasma capsulatum*, mientras que en el segundo caso se obtuvieron además de las *Candidas* mencionadas, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *Fusarium* sp. y cultivos mixtos. El estudio de la detección de fungemia mediante el sistema automatizado arrojó los siguientes hallazgos: 57.14% de los pacientes con fungemia fueron masculinos y el 42.86% femeninos, siendo los lactantes el grupo más afectado (57.14%). De las levaduras tipificadas, *C. parapsilosis* ocupó el segundo lugar después de *C. albicans*, con un 42.31% y un 46.15% respectivamente, siguiéndole *C. glabrata* con un 7.69% y *C. tropicalis* con un 3.85%. La Unidad de

Terapia Intensiva Pediátrica (UTIP) fue el servicio con el mayor número de pacientes con hemocultivos positivos (21.43%). Entre los factores de riesgo relacionados con el desarrollo de fungemia, el uso de dispositivos invasivos ocupó el primer lugar, seguido por el uso de antibióticos de amplio espectro. El 55% de los pacientes presentó una infección simultánea por el mismo hongo aislado en sangre, y detectada por su aislamiento de otros sitios o materiales biológicos. La mortalidad asociada directamente a la fungemia fue del 14.28%. De los factores de la muestra, que influyen en la detección de fungemia, el tiempo en el que se detectó el desarrollo de microorganismos fue de 1 a 7 días para hongos levaduriformes, de 3 a 6 días para *Fusarium* sp., de 1 a 6 días para cultivos mixtos de hongos levaduriformes + bacterias y de 5 días para un cultivo mixto de hongos levaduriformes + hongos filamentosos. El 57.14% de los pacientes con fungemia completaron una serie de 3 o más hemocultivos, el resto entregaron sólo uno o dos; por el contrario, aquellos pacientes con sospecha de fungemia pero que no presentaron hemocultivos positivos, solo el 24.37% completaron una serie de 3 o más hemocultivos. En cuanto a los tiempos de entrega, el 82.42% de los hemocultivos fueron devueltos de uno a cinco días desde que el médico lo solicitó al laboratorio, y el 13.08% tardaron de seis hasta 30 días o más en ser devueltos.

Conclusiones: La información obtenida en este estudio nos permitió caracterizar la incidencia de fungemia en los pacientes del INP, proporcionando además información útil para su correcta detección, y para la implementación de pautas para reducir en la medida de lo posible la probabilidad de adquirir una infección por hongos y desarrollar una fungemia.

2. INTRODUCCIÓN

2.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1. ¿Cuál es la incidencia de las fungemias en la población del Instituto Nacional de Pediatría (INP)?
2. ¿Cuáles son las variables que intervienen y resultan fundamentales para su detección y diagnóstico?
3. ¿Qué factores de riesgo están presentes en esta población, que predisponen a la adquisición de este tipo de micosis?

2.2 OBJETIVOS

2.2.1 Objetivos generales

- Ofrecer información acerca de la incidencia de fungemia en la población del INP, y de los factores de riesgo asociados a ésta
- Reforzar los criterios y la metodología para el manejo y proceso del hemocultivo, en base a las variables que intervienen y resultan fundamentales para la detección y el diagnóstico de fungemia

2.2.2 Objetivos particulares

- Destacar la ventaja que representan los sistemas automatizados sobre la técnica manual en la detección de fungemia
- Conocer la frecuencia y los principales tipos de hongos (levaduriformes y filamentosos) causantes de fungemia
- Identificar los principales factores de riesgo de fungemia
- Identificar el género y los grupos etarios más afectados por fungemia
- Identificar los servicios hospitalarios en los que la fungemia tiene mayor incidencia
- Identificar los factores, dentro de la fase preanalítica, que inciden en el diagnóstico de fungemia

2.3 JUSTIFICACIÓN

En los últimos 30 años las infecciones fúngicas de origen nosocomial han tenido un incremento notable, en Estados Unidos de América (EUA) se reportó un incremento de hasta 207% del año 1979 al 2000, en sepsis relacionadas con hongos. **12, 41, 42**

Dichas infecciones están asociadas a altas tasas de morbimortalidad, en América Latina (AL) se estima una incidencia promedio de candidemia de 0.98 casos por cada 1000 ingresos hospitalarios. Por otro lado, la mortalidad asociada a candidemia es de 30 a 40% en adultos y de 13 a 23% en niños, mientras que de forma general, para infecciones sistémicas causadas por hongos filamentosos es del 40 al 90%, teniendo por ello un impacto significativo en la economía de los sistemas de salud. **27, 34, 35, 39**

Aunque *C. albicans* es el patógeno oportunista aislado con mayor frecuencia, en los últimos años se ha visto un incremento notable de infecciones causadas por especies de *Candida* no-*albicans*, así mismo, de infecciones causadas por hongos filamentosos. **1, 7, 34, 42**

Dicho aumento está relacionado directamente con el incremento en el número de pacientes con enfermedades o estados críticos, así como con la complejidad de los procedimientos terapéuticos y quirúrgicos actuales que son cada vez más eficaces pero también más agresivos, destacando los pacientes con enfermedades hematógenas, pacientes inmunocomprometidos e inmunodeficientes, el uso de dispositivos como el catéter venoso central (CVC), los Trasplantes de Órgano Sólido (TOS) y de precursores

hematopoyéticos, y el uso de antibióticos de amplio espectro y esteroides. **35**

Existen pocos estudios acerca de las fungemias en pacientes pediátricos, y aunque se han realizado estudios globales, principalmente de las candidemias, es necesario realizar estudios epidemiológicos específicos en pacientes pediátricos, en donde se estudien factores de riesgo, manifestaciones clínicas, distribución de especies, aspectos microbiológicos, tratamiento, sensibilidad antifúngica y mortalidad, para tener de esta forma una mejor caracterización de las fungemias en este tipo de pacientes. **39**

Mediante este estudio se pretende encontrar la incidencia y la mortalidad asociadas a las fungemias en una población específica, en este caso un hospital pediátrico de tercer nivel, así mismo, se pretende fundamentar la importancia del hemocultivo y de los sistemas automatizados en su detección y diagnóstico, permitiendo reforzar los criterios y la metodología para su manejo y proceso desde la fase preanalítica hasta la fase postanalítica, dicha información será útil para el diagnóstico y seguimiento oportunos de los pacientes con sospecha de fungemia o con una fungemia confirmada.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 FUNGEMIA

Durante mucho tiempo la especie humana ha cohabitado con los microorganismos que se encuentran en su entorno, sin embargo, esta relación puede verse alterada bajo dos condiciones principales: 1) cuando el sistema de defensa del hospedero resulta incompetente (infecciones por hongos oportunistas) o 2) cuando la concentración del agente patógeno alcanza una alta densidad (infecciones por hongos endémicos o patógenos primarios), es aquí cuando una infección puede hacerse presente. **14, 34**

Se denomina septicemia a la invasión del torrente sanguíneo por hongos, bacterias o virus, y se establece cuando su crecimiento supera la capacidad del sistema fagocitario para eliminarlos. Dicha invasión da lugar a manifestaciones clínicas propias de una infección sistémica, tales como fiebre o hipotermia, taquicardia o bradicardia y leucocitosis o leucopenia. **15**

Entre dichos agentes infecciosos, los hongos han emergido progresivamente como una causa importante de infecciones que pueden poner en peligro la vida. **31**

El término específico para denominar a una infección del torrente sanguíneo por hongos, es fungemia, y se trata de un tipo particular de micosis sistémica, la cual tiene un origen localizado, pero que al diseminarse por el torrente sanguíneo puede afectar a dos o más órganos profundos no contiguos. **4**

La fungemia está asociada a altas tasas de morbilidad y mortalidad, de ahí su importancia, entre los pacientes con un gran riesgo se encuentran aquellos enfermos críticos y/o inmunocomprometidos principalmente, de los cuales se derivan múltiples causas. **13, 35**

El diagnóstico de las fungemias sigue siendo difícil debido a la escasa especificidad de las manifestaciones clínicas y la baja sensibilidad y relativa lentitud de los métodos microbiológicos, por lo que deben valorarse en conjunto.

La técnica de hemocultivo se considera el método de elección para su diagnóstico, pues el aislamiento y recuperación del agente fúngico siempre será la evidencia más importante de su viabilidad, permitiendo así su tipificación y el estudio de su sensibilidad. **5, 38**

En la actualidad ha resultado de gran utilidad la introducción de sistemas automatizados que permiten el monitoreo continuo de los cultivos durante el periodo de incubación, permitiendo así la temprana detección de cultivos positivos. **32**

3.1.1 Agentes etiológicos

3.1.1.1 Hongos levaduriformes

Entre los agentes etiológicos de las infecciones fúngicas del torrente sanguíneo, las levaduras del género *Candida* ocupan el lugar más importante, siendo éstas la cuarta causa más común de sepsis nosocomiales en EUA. **16, 17, 29, 36**

La detección de blastoconidios del género *Candida* en sangre, asociada a signos y síntomas de infección, nunca debe considerarse como un contaminante, y es necesario investigar y determinar el origen de la infección. El resultado de un solo hemocultivo negativo no descarta la infección, sin embargo, un solo hemocultivo positivo confirma el diagnóstico de candidemia. **13, 16**

El género *Candida* comprende más de 200 especies, pero solo unas cuantas causan enfermedad en seres humanos, entre ellas: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis*, *C. pelliculosa*, *C. kefyr*, *C. lipolytica*, *C. famata*, *C. inconspicua*, *C. rugosa* y *C. norvegensis*; de ellas, *Candida albicans* es la especie más frecuentemente aislada, siguiéndole *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis* en AL, y *Candida glabrata* en EUA. **13, 16**

Durante los años ochenta *C. albicans* era considerada el principal agente etiológico de candidosis diseminada, con más del 70% de los aislamientos, sin embargo, para los noventa su incidencia disminuyó a alrededor del 50%, habiendo un incremento notable de especies no-*albicans*. **43**

La incidencia y distribución de las candidemias es variable dependiendo de la región y del grupo de pacientes. En el año 2010 Falagas y otros autores realizaron una revisión sistemática acerca de la frecuencia global de las candidemias en pacientes de varias partes del mundo, en ella se observó la siguiente tendencia para AL y EUA: **17, 29, 42**

Tabla 3.1 Incidencia de las diferentes especies de *Candida* en estudios multicéntricos de AL y EUA ¹⁷

	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida krusei</i>	Otras (**)
AL	40.9 – 42.0%	4.9 – 7.7%	20.5 – 21.3%	20.9 – 24.2%	0.0 – 1.1%	4.8 – 8.6%
EUA	45.0 – 58.0%	18.8 – 24.0%	7.0 – 13.0%	11.0 – 12.2%	0.0 – 2.4%	2.0 – 4.9%

(**) *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. famata*, *C. inconspicua*, *C. norvegensis*, entre otras

Por otro lado, Santolaya y colaboradores reportaron en un estudio prospectivo realizado en 23 hospitales de ocho países de AL (Argentina, Brasil, Chile, Colombia, Ecuador, Honduras, México y Venezuela) entre 2008 y 2010, que el 29% de los casos de candidemia se produjo en neonatos (≤ 28 días) y el resto en pacientes de 0.2 a 18 años (con un promedio de 2 años), con la siguiente frecuencia: ³⁹

Tabla 3.2 Incidencia de las diferentes especies de *Candida* en AL

39

	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida glabrata</i>	Otras (***)
Neonatos (≤ 28 días)	43.8 %	27 %	14.6 %	4.5 %	4.5 %	3.4 %	2.2 %
No neonatos (0.2 a 18 años)	35.7 %	26.3 %	14.6 %	12.7 %	2.3 %	3.3 %	5.1 %

(***) Neonatos: *C. lusitaniae*, *C. intermedia*; No neonatos: *C. haemulonii*, *C. pelliculosa*, *C. intermedia*, *C. norvegensis*, *C. lusitaniae*, *C. albicans* + *C. glabrata*

Y con una mortalidad global de 31%, distribuida de la siguiente forma:

Tabla 3.3 Mortalidad por candidemia según la edad ³⁹

Rangos de edad	Mortalidad (%)
Neonatos	41
Niños de un mes a un año	26
Niños de 1 a 12 años	24
Niños de 13 a 18 años	35

La importancia de realizar estudios epidemiológicos que evidencien la situación actual de las candidemias, radica en que tanto la distribución geográfica como los patrones de sensibilidad son muy variables, siendo importantes también las vías de transmisión y los factores de riesgo. ^{5, 13, 34, 35}

Las especies de *Candida* son patógenos oportunistas que residen en la mucosa del tracto gastrointestinal, en la cavidad oral, en el esófago y en la vagina, formando parte de la microbiota normal del ser humano, por lo que su principal mecanismo de colonización es endógeno y puede darse por un proceso de desequilibrio o por el compromiso local o sistémico de los mecanismos de respuesta. El segundo mecanismo es exógeno y ocurre principalmente a través de las manos de los profesionales de la salud, así como de dispositivos médicos o soluciones intravenosas. ^{13, 16, 34, 41}

La frecuencia de *C. albicans* es muy uniforme en todas las edades, siendo ésta junto con *C. parapsilosis*, las más frecuentemente aisladas en pacientes pediátricos, incluyendo lactantes. ³⁹

Las infecciones sistémicas producidas por el género *Candida* no cursan con signos patognomónicos, y dado la baja sensibilidad de los hemocultivos su diagnóstico es difícil, es por ello que su tasa de mortalidad es alta, alcanzando de 30 a 40% en adultos y de 13 a 23% en niños, y ocupando el segundo lugar en fallecimientos entre todas las causas de sepsis. **5, 27, 39**

A pesar de que las fungemias comparten gran parte de los factores de riesgo, las candidemias presentan algunos factores de riesgo específicos de acuerdo a la especie, entre los cuales destacan: **34**

- *Candida albicans*. La principal fuente de infección es endógena, se alcanza cuando hay una pérdida en el balance de la biota normal o con el compromiso de la respuesta inmune. **13**
- *Candida parapsilosis*. Se trata de un complejo formado por tres especies distintas, *C. parapsilosis* estrictamente, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*, las tres con diferencias importantes en cuanto a virulencia y susceptibilidad antifúngica probadas por técnicas moleculares. **13, 41, 43**

Dicho complejo es un colonizador transitorio de piel y uñas, por lo que es frecuentemente aislado de las manos de enfermeras y de otros profesionales de la salud, por esta misma causa se aísla frecuentemente de neonatos. **12, 13, 43**

Entre los factores de riesgo asociados a dicha especie se encuentran su capacidad para proliferar soluciones de nutrición parenteral, y a su gran afinidad para colonizar dispositivos intravasculares y materiales prostéticos. **17, 34, 43**

- *Candida glabrata*. Su incidencia es mayor en adultos que en niños y baja en neonatos. Inicialmente se consideraba parte de la biota normal de individuos sanos, sin embargo, en la actualidad se considera un patógeno emergente debido al incremento en el uso de terapias inmunosupresivas, al uso de antibióticos de amplio espectro y al uso profiláctico de fluconazol. **13, 42**
- *Candida tropicalis*. Aislada generalmente de pacientes neoplásicos, principalmente aquellos con leucemia, neutropénicos y con Trasplante de Precursores Hematopoyéticos (TPH). **13, 17, 34, 41**
- *Candida krusei*. Al igual que *Candida glabrata*, se considera un patógeno emergente debido al uso profiláctico de fluconazol, y se asocia principalmente con candidemias de pacientes adultos neutropénicos. **13, 16**

La importancia de la tipificación a nivel de especie radica en que todas ellas difieren en cuanto a su perfil de sensibilidad. **11**

A pesar de la alta incidencia en la recuperación de blastoconidios del género *Candida*, no todos los recuperados de hemocultivos deben considerarse de éste, pues se ha observado que hasta un 5% pertenecen a géneros como *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Rhodotorula* o *Saccharomyces*. **11**

También se ha reportado que del 20 al 24% de los casos de candidemia se presentan como infecciones mixtas por la presencia de bacterias, éstas tienen una tasa de mortalidad en promedio 2.15 veces mayor comparada con la de las sepsis causadas por un solo agente. **27**

3.1.1.1 Hongos filamentosos

Aunque los hongos levaduriformes constituyen la principal causa de fungemia, los hongos filamentosos han incrementado su prevalencia, provocando infecciones diseminadas en pacientes severamente inmunosuprimidos o que cursan con neutropenia, como los son aquellos con leucemia o con Trasplante Alogénico de Precursores Hematopoyéticos (Alo-TPH) u órganos sólidos, que no han recibido un tratamiento adecuado ante una infección localizada. **20, 24, 34**

La neutropenia es una condición que favorece y es fundamental para adquirir una infección por hongos filamentosos, condición que se presenta en los pacientes mencionados anteriormente, en los que generalmente una infección de este tipo se torna invasiva y letal. **19, 24**

Las infecciones invasivas provocadas por hongos filamentosos son causadas generalmente por hongos del género *Aspergillus*, seguido por *Fusarium* spp. y en menor proporción por *Scedosporium* spp. y algunos mucorales. **34, 35**

Aspergillus spp. y *Fusarium* spp. son hongos ubicuos, pudiendo aislarse del aire, el agua, la tierra, las plantas y de materia orgánica en descomposición. **22, 30**

Su alta capacidad de conidiación los hace potencialmente anemófilos, por lo que la principal vía de acceso al organismo es la respiratoria, sin embargo, también pueden acceder por el consumo de alimentos contaminados o por inoculación directa en un sitio donde las barreras primarias, como lo son la piel y las mucosas, se encuentren deterioradas o alteradas. **11, 22, 24**

El género *Aspergillus* incluye cerca de 300 especies, de las que solo una pequeña proporción pueden causar infecciones oportunistas, las principales son: *A. niger*, *A. fumigatus*, *A. flavus*, *A. terreus*, *A. nidulans*, *A. glaucus* y *A. versicolor*. ³⁵

La aspergilosis diseminada es una entidad poco frecuente, en la mayoría de los casos tiene un origen pulmonar invasivo, frecuentemente dado por *A. fumigatus*, que por el tamaño de sus microconidios profundiza fácilmente los alveolos pulmonares. ^{18, 22, 38}

Otra forma de desarrollar una aspergilosis diseminada es a partir de una lesión en la piel o en las mucosas, que en pacientes hospitalizados puede darse por sondas, cánulas, jeringas, catéteres o incluso cintas adhesivas. *A. flavus* es en la mayoría de los casos el causante de infecciones originadas de esta forma. ¹⁸

En el caso del género *Fusarium* se han reconocido más de 100 especies, pero sólo se han descrito cerca de 70, las que frecuentemente afectan a humanos son: *F. solani* (50%), *F. oxysporum* (14%), *F. verticillioides* (11%), *F. moniliforme* (10%) y *F. proliferatum* (5%). ³⁰

Fusarium sp. es un hongo que se alimenta de azúcares presentes en frutos como el plátano, además de ser el agente número uno de queratitis micótica en adultos.

En infecciones por *Fusarium* sp., al igual que las originadas por el género *Aspergillus*, las formas de diseminación más comunes son la piel y las vías respiratorias.

Tanto *Fusarium* sp. como *Aspergillus* sp. son hongos angiotrópicos y angioinvasivos, es decir, invaden las paredes vasculares ocasionando trombosis, isquemia y necrosis tisular, pudiendo diseminarse por vía hematológica a cualquier órgano como consecuencia del fallo del sistema inmune para controlar una infección localizada, sin embargo, la recuperación del recuento de neutrófilos tiene gran importancia en la supervivencia. **2, 18, 24**

3.1.2 Factores de virulencia del agente patógeno

Los hongos cuentan con diversos factores de virulencia, entre ellos destacan:

1. Capacidad para adherirse a células, tejidos y superficies artificiales, y para formar biopelículas

El primer paso para la colonización es la adherencia, que es mediada por las proteínas de la pared celular del microorganismo, así como por sus propiedades fisicoquímicas (hidrofobicidad y fuerzas electrostáticas), ambas estrechamente relacionadas. **41, 42**

Una biopelícula se trata de una comunidad microbiana, homogénea o heterogénea, embebida en una matriz extracelular autoproducida. Su formación inicia con la adherencia a una superficie, siguiendo un proceso de acondicionamiento, adhesión, síntesis de matriz extracelular, maduración y dispersión, favorecida además por el flujo y composición del medio que la rodea, el pH, la temperatura, el oxígeno y la osmolaridad. **9, 41, 42**

En el caso de *Candida*, la película madura consiste en una densa red de blastoconidios, pseudohifas e hifas, cubierta por una matriz extracelular compuesta de carbohidratos, proteínas, fósforo y hexosaminas en diferentes proporciones según la especie y la composición del medio. ^{9, 41, 42}

La formación de biopelículas por hongos filamentosos sigue los pasos de: 1) adsorción de estructuras de reproducción, 2) unión activa a superficies, 3) formación de colonias I (crecimiento, colonización, ramificación de hifas como monocapa y producción de la matriz extracelular), 4) formación de colonias II (formación de redes compactas de micelio, adhesión hifa-hifa y formación de canales de agua), 5) maduración y reproducción (formación de cuerpos fructíferos, conidios, esclerotes y otras estructuras de resistencia) y 6) dispersión de conidios o fragmentos de biopelícula para reiniciar el ciclo. ⁹

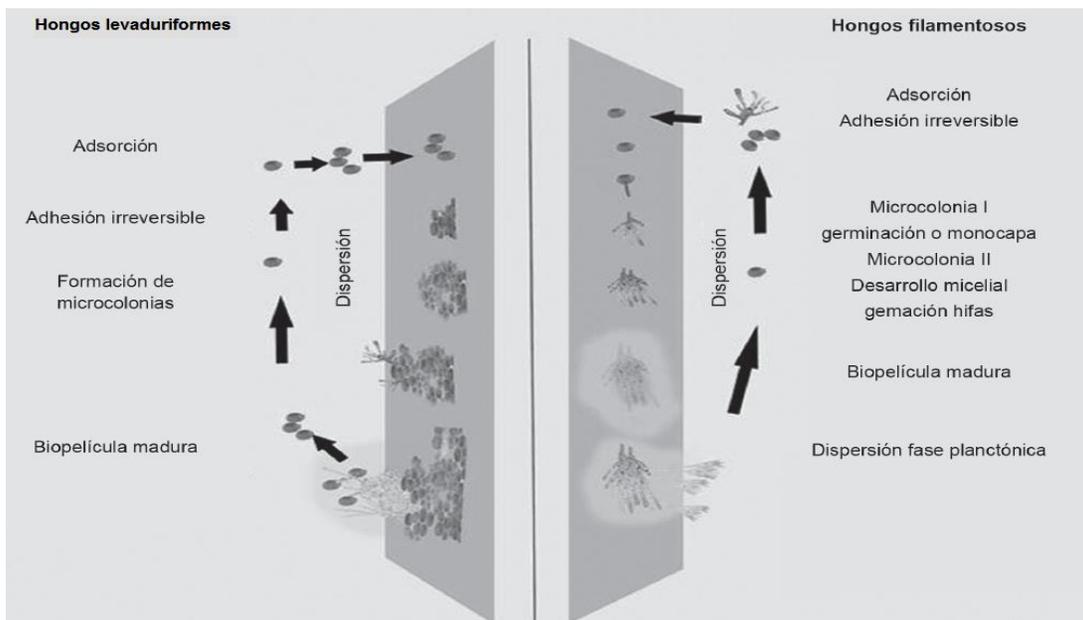


Fig. 3.1 Fases de desarrollo de biopelículas fúngicas. Tomado y modificado de Castrillón, 2013 ⁹

La formación de biopelículas confiere una resistencia significativa a los antifúngicos por la limitada penetración de sustancias a través de la matriz extracelular, así como protección contra la respuesta inmune del hospedero. **13, 42, 43**

2. Secreción de enzimas hidrolíticas.

Las enzimas hidrolíticas juegan un papel fundamental en la adherencia, penetración, invasión y destrucción de los tejidos del hospedero. **41**

Las principales enzimas relacionadas con la patogenicidad de *Candida* son la aspartil-proteinasa secretora (Saps), las fosfolipasas, las lipasas y las hemolisinas. **42, 43**

La Saps facilita la invasión y colonización a través de la ruptura de membranas mucosas y la degradación de las proteínas de defensa estructural e inmunológica. **22, 42, 43**

Las fosfolipasas hidrolizan a los fosfolípidos en ácidos grasos, contribuyen al daño membranal de las células del hospedero y son capaces de producir receptores para facilitar la adherencia. **42**

El papel de las lipasas incluye la digestión de los lípidos para la adquisición de nutrientes, la adhesión a células y tejidos y la iniciación de los procesos inflamatorios inespecíficos. **41, 43**

La adquisición de hierro mediante la destrucción de los eritrocitos por medio de hemolisinas es fundamental para el establecimiento de un

proceso infeccioso, pues este es un elemento esencial para el crecimiento y virulencia de la mayoría de los microorganismos. **41, 42**

En el caso de los hongos filamentosos, es el género *Aspergillus* el que se ha estudiado con mayor frecuencia, teniendo también como factores de virulencia adhesinas, fosfolipasas y hemolisinas, y otros como la producción de pigmentos de melanina, proteasas, peptidasas, catalasas, la superóxido-dismutasa, así como micotoxinas que producen lisis celular, entre ellas la restrictosina ribonucleasa y la gliotoxina productora de inmunosupresión. **6, 22**

3. Cambios morfológicos

En el caso de los hongos levaduriformes del género *Candida*, éstos poseen la capacidad de cambiar morfológicamente de blastoconidio a pseudohifa o hifa, excepto *C. glabrata*. Esta transición morfológica está influenciada por factores ambientales como el suero, la temperatura y el pH. **41**

El desarrollo de hifas y pseudohifas juega un papel importante en la invasión de tejidos y resistencia a la fagocitosis, y en la formación de biopelículas. **41, 42**

A pesar de la acción de los diferentes factores de virulencia y mecanismos de resistencia, en el caso de los hongos oportunistas, el estado inmunitario del hospedero es el factor más importante para que estos se transformen en patógenos. **13**

3.1.3 Factores de riesgo del hospedero

Las fungemias han incrementado en las últimas décadas como resultado de múltiples factores, entre ellos, el uso incrementado de dispositivos como el catéter venoso central (CVC), el uso frecuente de la nutrición parenteral y las diálisis, la ventilación mecánica, las cirugías (principalmente de tipo abdominal), TOS y de precursores hematopoyéticos, técnicas de instrumentación agresivas o repetidas, así como el uso de antibióticos de amplio espectro o esteroides. **10, 12, 13, 22, 34, 35, 36**

Por otro lado, pacientes con enfermedades críticas que permanecen de forma prolongada en unidades de cuidados intensivos, pacientes con neoplasias hematógenas quienes reciben tratamientos agresivos que dan lugar a la alteración de las mucosas o a neutropenia prolongada, pacientes inmunocomprometidos e inmunodeficientes, y en los neonatos además, prematurez y bajo peso al nacer, siendo estos últimos más susceptibles que los niños y los adultos. **10, 12, 13, 22, 34, 35, 36**

Las infecciones invasivas por hongos filamentosos tienen además como factor de riesgo principal la neutropenia prolongada (>10 días) y profunda (<500 neutrófilos/mm³), derivada principalmente de los Alo-TPH, TOS, tratamientos antineoplásicos, enfermedades hematógenas como leucemias agudas o síndromes mielodisplásicos, o inmunodeficiencias primarias o adquiridas como la Enfermedad Granulomatosa Crónica (EGC), además infecciones por Citomegalovirus (CMV) o la Enfermedad Injerto Contra Huésped (EICH). **18, 20, 34,**

En el caso de las infecciones asociadas a catéter, éstas dependen del material del catéter, el tipo de vía, el tiempo de utilización, la frecuencia

de acceso, la virulencia del microorganismo infectante, el diagnóstico de base del paciente, el sitio de inserción del catéter y la asepsia en los procedimientos. **15, 21**

El diagnóstico de la infección puede realizarse con el retiro y cultivo del catéter o mediante hemocultivos en los casos en los que se requiera de una intervención quirúrgica para la retirada del mismo, la decisión debe basarse siempre en el grado de sospecha, tipo de catéter y estado clínico del paciente. **21**

Un factor importante para la interpretación de una infección asociada a catéter, es la diferencia en el tiempo de positividad entre un hemocultivo obtenido por ésta vía y un segundo obtenido por venopunción, si el primer hemocultivo resulta positivo al menos de 90 a 120 minutos antes que el segundo en un sistema automatizado, este resultado sugiere que el primero tiene una mayor concentración de microorganismos y es la fuente de la infección. **21, 32**

Las infecciones asociadas a catéter son la causa principal de morbilidad y mortalidad en pacientes hospitalizados, siendo la formación de biopelículas la causa del 90% de estas infecciones. **41**

Los antibióticos de amplio espectro representan un factor importante, ya que suprimen la biota normal del tracto gastrointestinal, favoreciendo así la colonización por *Candida*, la posterior invasión de la mucosa y el riesgo aumentado de su paso al torrente sanguíneo a través del epitelio por fenómenos de translocación. Así mismo, las cirugías abdominales representan un punto de acceso para *Candida*, al torrente sanguíneo. **19, 34, 35**

El uso de corticosteroides altera la función de los linfocitos, neutrófilos, monocitos, macrófagos y células dendríticas, disminuyendo la capacidad para crear una respuesta inmune, alterando además la capacidad de fagocitosis y de protección de los procesos oxidativos de las células de defensa. Algunos también pueden favorecer la capacidad de adherencia a las mucosas y los procesos de translocación del tubo digestivo al torrente sanguíneo. **22**

Los tratamientos antineoplásicos como las quimioterapias suelen ser más intensos en niños que en adultos, por lo que estos representan un factor de riesgo importante por la neutropenia y deficiencia de monocitos, en pacientes neoplásicos neutropénicos el origen de una candidemia tiende a ser principalmente gastrointestinal más que cutáneo, por lo que la mucositis juega un papel importante. **40**

Los pacientes trasplantados tienen además un riesgo mayor de adquirir una infección por hongos filamentosos como *Aspergillus*, pues presentan una alteración importante en su sistema inmune relacionada directamente por el grado de compatibilidad donante-receptor, a mayor disparidad mayor grado de rechazo del injerto, y por ende una mayor necesidad de inmunosupresión. Las técnicas de trasplante más agresivas producirán también una mayor alteración del sistema inmune. **22**

En los pacientes inmunosuprimidos la cinética de reconstitución de su sistema inmune dependerá de su enfermedad de base, aquellas que lo comprometan de forma más prolongada se relacionarán con mayor riesgo de una infección fúngica. **22**

La inmadurez del sistema inmunitario de los recién nacidos pretérmino constituye el factor de riesgo más importante en el neonato, pues carecen de funciones de inmunoprotección básicas como quimiotaxis, fagocitosis, producción de citosinas y anticuerpos, además de los procedimientos médicos invasivos a los que están sometidos y que son necesarios para su supervivencia. **19, 39**

En el caso de las UCI, éstas presentan condiciones o características en las que los pacientes se vuelven más susceptibles a la adquisición de infecciones, éstas características son:

1. Intervención de diferentes servicios médicos y quirúrgicos
2. Pacientes ya con algún factor de riesgo: prematuridad, malformaciones, cirugías, entre otras
3. En el caso de Unidades de Cuidados Intensivos Neonatales, dificultad para implementar barreras de protección para estos pacientes (bata, guantes, cubrebocas, etc.) **23**

En la EICH y en las infecciones por CMV, la habilidad de los linfocitos y los monocitos para producir una respuesta inmune favorable frente a las infecciones, se encuentra alterada.

Por otro lado, todas aquellas condiciones que generen elevados valores de sideremia, como la Leucemia Aguda Mieloide (LAM), los tratamientos quimioterapéuticos y los TOS y de precursores hematopoyéticos, incrementan el riesgo de complicaciones infecciosas principalmente de etiología fúngica, pues como se mencionó anteriormente, el hierro es un elemento esencial para el crecimiento y virulencia de la mayoría de los microorganismos. **1**

3.1.4 Manifestaciones clínicas

La candidemia no presenta signos y síntomas específicos, por lo que frecuentemente suele confundirse con una bacteriemia, sin embargo, ciertas manifestaciones pueden orientar a los profesionales de la salud ante la sospecha de una candidemia. **19**

Una de las primeras manifestaciones es la fiebre sin respuesta al tratamiento con antibióticos de amplio espectro, que en pacientes inmunodeprimidos puede desencadenar un cuadro de Respuesta Inflamatoria Sistémica (RIS) con choque y falla multiorgánica. **19**

Otras manifestaciones más específicas van a depender del origen de la infección o del alcance que ha tenido, es decir, si ha afectado a uno o más órganos o sistemas. **16, 19**

Los signos y síntomas son muy variados dependiendo del órgano afectado, por lo que resulta útil además de la evaluación de éstos, un estudio de extensión de la infección: punción lumbar, ecocardiografía, ecografía abdominal y/o ecografía renal. **12, 19**

En el examen físico, la corioretinitis, las lesiones en la piel (pústulas dolorosas con periferia eritematosa, nódulos con necrosis central o máculas) y los abscesos musculares con menor frecuencia, pueden orientar hacia el diagnóstico de una candidemia. **16**

En recién nacidos y lactantes pueden presentarse signos y síntomas muy sutiles, que van desde inestabilidad térmica, letargia, apnea, hipotensión, distrés respiratorio, distensión abdominal, hiperglucemia, intolerancia a la vía oral y trombocitopenia. En dichos pacientes la

afectación de sistema nervioso central dado por un cuadro de meningoencefalitis, tiene alta incidencia. **19, 39**

En el caso de infecciones diseminadas por *Aspergillus* sp. y *Fusarium* sp., los dolores musculares y la fiebre persistente sin respuesta al tratamiento antibiótico y antifúngico empírico, son características importantes que deben tomarse en cuenta para el diagnóstico. **2, 30**

La diseminación por el torrente sanguíneo tanto de *Aspergillus* sp. como de *Fusarium* sp. se manifiesta generalmente en forma de nódulos subcutáneos, pápulas eritematosas o grises, máculas o pápulas con necrosis central progresiva y con borde fino eritematoso, pústulas flácidas, vesículas o ampollas hemorrágicas diseminadas por toda la piel, con predominancia en las extremidades y con tendencia a afectar las zonas de venopunción. **2, 18, 25, 30**

Dichas lesiones son un indicador de mal pronóstico en pacientes sin neutropenia. **2**

A pesar de que las lesiones son indiferenciables entre las de un agente causal y otro, para el diagnóstico, además de la información de los estudios microbiológicos, se observan diferencias como: **5, 25, 30**

- Presencia de lesiones cutáneas y subcutáneas: en el caso de infecciones por *Fusarium* sp. las lesiones cutáneas están presentes en el 60 al 90% de los casos, en contraste con la presencia de un 10% en los casos de aspergilosis diseminadas
- Porcentaje de positividad de los hemocultivos: para una infección por *Fusarium* sp. los hemocultivos resultan positivos en más del

50 al 70% de los casos, mientras que en una aspergilosis diseminada la positividad es menor al 6%

Dado que las manifestaciones clínicas son inespecíficas, el diagnóstico definitivo debe establecerse mediante el cultivo. **24, 25, 30**

Los pacientes con neutropenia, como aquellos que cursan con enfermedades hemáticas o Trasplante Autólogo de Médula Ósea (TAMO), presentan una mayor diseminación de las lesiones en la piel por una fusariosis diseminada, que los pacientes inmunocomprometidos no neutropénicos como los receptores de órgano sólido, en los que las lesiones suelen ser más localizadas. **30**

La endoftalmitis endógena también es una manifestación de una invasión hematógena por *Fusarium* sp., ésta provoca disminución de la agudeza visual, sensibilidad a la luz, dolor ocular, quemosis, edema palpebral y de la conjuntiva, y síntomas más severos como hipopion, corioretinitis e inflamación del vítreo con vasculitis. **2**

Ante la sospecha de una infección asociada a catéter, los signos y síntomas que deben tomarse en cuenta son: inflamación local, eritema, induración, pus o exudado en el sitio de inserción, sensibilidad, fiebre de origen desconocido en pacientes con catéter de más de tres días, hemocultivos positivos sin otro foco probable, normalización de la temperatura después de retirado el dispositivo, comienzo de los síntomas inmediatamente después del inicio de una infusión, o incluso mal funcionamiento del mismo. **21**

3.1.5 Tratamiento

3.1.5.1 Opciones terapéuticas

Debido a las altas tasas de morbilidad y mortalidad, y los elevados costos que generan las infecciones fúngicas, es importante el desarrollo de estrategias terapéuticas tanto profilácticas como empíricas. **46**

A continuación se resume la utilidad de los antifúngicos sistémicos utilizados actualmente:

3.1.5.1.1 Triazoles

Antimicóticos sintéticos de amplio espectro y baja toxicidad. Su mecanismo de acción es fungistático, excepto en concentraciones elevadas y frente a ciertos hongos, en donde actúa como fungicida. Actúan como inhibidores de la síntesis de ergosterol, que es el componente principal de la membrana fúngica. **42, 44**

- ✓ **Fluconazol.** Tratamiento de primera elección en pacientes con sospecha de una infección sistémica o en pacientes con una infección documentada por *Candida*, esto debido a su eficacia y seguridad. Sin embargo, debido al incremento de especies resistentes a este antifúngico, en pacientes críticos se recomienda en la desescalada terapéutica. **44, 46**

Los efectos secundarios en el prematuro son elevación reversible de las enzimas hepáticas o de la bilirrubina. **19**

- ✓ **Itraconazol.** Triazol de segunda generación, muestra actividad frente a diversas especies de *Candida* y *Aspergillus*. Se dispone de una formulación intravenosa de amplio espectro, sin embargo, la ausencia de ensayos clínicos en pacientes con candidemia, sus interacciones farmacológicas y la escasa información sobre su excipiente (ciclodextrina) limitan su uso en el paciente crítico. ⁴⁶

- ✓ **Voriconazol.** Antifúngico de amplio espectro, se recomienda principalmente y como tratamiento de primera elección en la aspergilosis invasiva, candidemia en pacientes neutropénicos y por cepas resistentes a fluconazol, y en el tratamiento de infecciones graves por *Fusarium* y *Scedosporium*. ^{44, 46}

- ✓ **Posaconazol.** Triazol de amplio espectro con una actividad *in vitro* que incluye principalmente cepas de *Candida* spp. resistentes a fluconazol e itraconazol, así como contra *Aspergillus* spp., *Cryptococcus* e *Histoplasma*. ^{44, 46}

La Food and Drug Administration (FDA) lo ha aprobado como tratamiento profiláctico en pacientes inmunosuprimidos o neutropénicos cuando cursan con infecciones invasivas por especies de *Aspergillus* y *Candida*. ⁴⁴

Su uso es exclusivamente por vía oral, por lo que en pacientes críticos es difícil considerarlo de primera elección. ⁴⁶

3.1.5.1.2 Derivados poliénicos

Antibióticos naturales que resultan del antagonismo entre actinomicetos y hongos. Tienen acción fungistática y fungicida, actúan a nivel de la

membrana fúngica y del sistema endomembranoso, uniéndose principalmente al ergosterol y formando grandes poros. ⁴⁴

- ✓ **Anfotericina B.** Fármaco de amplio espectro y baja resistencia frente a la mayoría de los hongos levaduriformes, filamentosos y oportunistas. Es el tratamiento de elección en infecciones sistémicas que no responden a los azoles, como en el caso de pacientes neutropénicos. ⁴⁴

La anfotericina B desoxicolato fue la primera formulación comercializada, entre sus limitaciones se encuentra su elevada nefrotoxicidad, que impide alcanzar las concentraciones plasmáticas necesarias para el tratamiento. ⁴⁶

Actualmente se tienen tres formulaciones que reducen estos efectos tóxicos: anfotericina B lipídica, liposomal y de dispersión coloidal. ⁴⁴

La anfotericina B liposómica se recomienda en pacientes críticos como tratamiento en candidosis y aspergilosis invasivas, principalmente en pacientes neutropénicos. ⁴⁶

3.1.5.1.3 Equinocandinas

Antimicóticos de origen natural que actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular fúngica. Su mecanismo de acción es fungicida y su espectro se limita a las diferentes especies de *Candida* y a *Pneumocystis jirovecii*. ^{44, 46}

- ✓ **Caspofungina.** Tiene un efecto fungicida frente a *Candida* y fungistático frente a *Aspergillus*. Aprobada en pacientes con

candidemia y aspergilosis invasivas y que no son candidatos a otros antimicóticos, en casos refractarios a tratamiento o como tratamiento empírico en pacientes con fiebre y neutropenia. ⁴⁴

- ✓ **Anidulafungina.** Tiene gran actividad frente a especies de *Candida* resistentes a diferentes azoles y a otras equinocandinas. La FDA ha aprobado su uso en candidemias y candidosis invasiva. ⁴⁴

- ✓ **Micafungina.** Tiene un efecto fungicida frente a las diferentes especies de *Candida* y fungistática frente a *Aspergillus*. Su único uso aprobado por la FDA es en casos de candidemia, candidosis invasiva y casos refractarios a tratamiento. ⁴⁴

El uso de equinocandinas en el recién nacido no está indicado, deben limitarse a situaciones en las que la resistencia o toxicidad impidan el uso de fluconazol o anfotericina B. ¹⁹

Tabla 3.4 Recomendaciones para el tratamiento farmacológico antifúngico en pacientes pediátricos ^{12, 18, 19, 20, 39, 40}

GRUPO	ANTIFÚNGICO	DOSIS RECOMENDADAS
Triazoles	Fluconazol*	Neonatos: 12 mg/kg/día vía intravenosa (i.v.) Lactantes y niños: 6-12 mg/kg vía oral (v.o.) o i.v. el primer día y continuar con 3-12 mg/kg/día
	Itraconazol	Pacientes de 1 mes a 16 años: 2.5-5 mg/kg/12h v.o. o i.v.
	Posaconazol	Pacientes con peso: < 15 kg: 6 mg/kg/12h v.o. Entre 15-19.9 kg: 100 mg/12h v.o. Entre 20-33.9 kg: 200 mg/12h v.o. ≥34 kg: 400 mg/12h v.o.
	Voriconazol	Pacientes: De 2 a 12 años: 7 mg/kg/12h i.v. o 200 mg/12h v.o., sin dosis de carga De 12 a 16 años: 6 mg/kg/12h i.v. el primer día y continuar con 4 mg/kg/12h Con peso < 40 kg: 200 mg/12h v.o. el primer día y continuar con 100 mg/12h Con peso ≥ 40 kg: 400 mg/12h v.o. el primer día y continuar con 200 mg/12h
Derivados poliénicos	Anfotericina B desoxicolato	Neonatos: 0.35-1 mg/kg/día i.v. Pacientes de 1 mes a 16 años: 0.5-1,5 mg/kg/d i.v.
	Anfotericina B lipídica	3-5 mg/kg/d i.v.

Continuación. Tabla 3.4 Recomendaciones para el tratamiento farmacológico antifúngico en pacientes pediátricos ^{12, 18, 19, 20, 39, 40}

GRUPO	ANTIFÚNGICO	DOSIS RECOMENDADAS
Derivados poliénicos	Anfotericina B liposómica	Neonatos: 1-5 mg/kg/d i.v. Pacientes de 1 mes a 16 años: 3-5 mg/kg/d i.v.
	Anidulafungina	3 mg/kg i.v. el primer día y continuar con 1,5 mg/kg/d i.v.
Equinocandinas	Caspofungina	Neonatos: 25 mg/m ² /d i.v. Pacientes de 1 mes a 16 años: 70 mg/m ² i.v. el primer día y continuar con 50 mg/m ² /d
	Micafungina	Neonatos: 15 mg/kg/día i.v. Pacientes con peso ≤ 40 kg: 2 mg/kg/día i.v. Pacientes con peso > 40 kg: 100 mg/día i.v.

*No indicado para el tratamiento de infecciones por hongos filamentosos

3.1.5.2 Tipos de tratamiento y recomendaciones

Se denomina tratamiento profiláctico a una terapéutica preventiva en la que el paciente no presenta infección, sin embargo, tiene un elevado riesgo de adquirirla. **7**

En el caso del paciente pediátrico no se tienen estudios aleatorizados y controlados sobre el tratamiento profiláctico, por lo que resulta útil extrapolar la información obtenida de adultos, y su uso debe considerarse solo en ciertos grupos de pacientes. **19, 40**

Los pacientes candidatos al tratamiento profiláctico se dividen en dos grupos, los de alto riesgo y los de riesgo intermedio, el primer grupo se conforma por pacientes con neutropenia mayor a 14 días, con LAM, en tratamiento de inducción o rescate, con Alo-TPH o TPH de cordón y aquellos con EICH o infección por CMV, en este grupo también debe hacerse énfasis en la cobertura para hongos filamentosos. En el segundo grupo están aquellos pacientes con neutropenia de 7 a 14 días, con Leucemia Aguda Linfoblástica (LAL), síndromes mielodisplásicos, TAMO y aquellos en tratamiento quimioterapéutico. Sin embargo, el uso de un tratamiento profiláctico en este segundo grupo aún es controvertido, por lo que deben considerarse otros factores de riesgo. **7, 19, 20, 35, 40**

En pacientes no neutropénicos deben considerarse los factores de riesgo para determinar la necesidad de este tipo de tratamiento, pues constituyen una población muy heterogénea. Se consideran candidatos aquellos pacientes con trasplante de hígado de alto riesgo, trasplante pulmonar, pancreático y de intestino, así como en pacientes con perforaciones gastrointestinales recurrentes o filtraciones anastomóticas por cirugía abdominal mayor. **7, 19, 20, 40**

El elevado riesgo de candidemia en recién nacidos pretérmino y con bajo peso al nacer constituye un fundamento sólido para administrar un tratamiento profiláctico, sin embargo, deben considerarse factores de riesgo adicionales, así como la relación riesgo-beneficio. **39**

Un tratamiento empírico es aquel que se inicia en pacientes con signos y síntomas de sospecha de una infección, sin embargo, no se tiene información confirmada de estudios microbiológicos, histológicos o serológicos. **7**

Antes de abordar este tipo de tratamiento deben considerarse todos los factores de riesgo, así como el estado neutropénico y la fiebre persistente, recomendando su uso en pacientes con un postoperatorio complicado o infección intraabdominal grave o recurrente, o aquellos pacientes con alto riesgo de aspergilosis e infecciones por otros hongos filamentosos, como los pacientes oncohemáticos o con reciente tratamiento inmunosupresor. **7, 20, 40**

Para el diagnóstico se deben incluir hemocultivos y cultivos de catéter en pacientes con condiciones que lo ameriten, estudios que apoyen la evidencia de infección, así como de otros focos o sitios probables. Sin embargo, se requieren más estudios para evaluar la eficacia y seguridad de esta opción terapéutica. **40**

Se habla de un tratamiento dirigido cuando se suministra un tratamiento determinado en contra del patógeno causante de la infección, misma que ha sido documentada con cultivos, histología o serología. En esta opción terapéutica es importante considerar la sensibilidad antifúngica. **7**

Al igual que en las opciones terapéuticas anteriores, es necesario extrapolar la información obtenida de estudios clínicos en adultos, dependiendo básicamente del estado clínico del paciente así como del microorganismo aislado. **40**

Finalmente, el concepto de desescalada terapéutica se refiere a una estrategia aplicada al paciente crítico, en la que se intenta conseguir un tratamiento empírico adecuado, evitando así un tratamiento excesivo. Se inicia con un antifúngico de amplio espectro que se sustituye por uno de menor espectro como el fluconazol cuando se tienen datos de la identificación o sensibilidad del aislamiento, o el paciente muestra mejoría, sin embargo, este tipo de tratamiento no se ha validado en pacientes pediátricos. **7, 40, 46**

La selección de cualquier tratamiento debe basarse en la condición del paciente, la gravedad de la infección, la diseminación hacia otros órganos, la especie infectante, los patrones de sensibilidad, los antecedentes de intolerancia a ciertos agentes antifúngicos, la interacción con otros fármacos, la disponibilidad de los diferentes antifúngicos y la epidemiología. **18, 19, 33**

Las recomendaciones en los tratamientos son similares en pacientes pediátricos y adultos, sin embargo, en algunos hay que realizar algunas modificaciones, ya que en pacientes pediátricos la farmacocinética es distinta.

De forma general, el tratamiento antifúngico debe mantenerse hasta la resolución de los signos y síntomas atribuibles a la infección y transcurridos al menos 14 días después del primer hemocultivo negativo, y en el caso del recién nacido después de obtener dos

hemocultivos negativos consecutivos; también debe descartarse la invasión a otros órganos y confirmar la resolución de la neutropenia. **16, 19, 33, 39, 46**

En pacientes con candidemia persistente, sepsis por hongos filamentosos o con complicaciones sépticas, la duración del tratamiento debe establecerse en base al estado del paciente, a las manifestaciones clínicas y a su evolución. **20, 39**

La evolución de los pacientes está relacionada con la implementación de un tratamiento adecuado y temprano, sin embargo, esto depende a su vez del tiempo en que los hemocultivos se presentan como positivos y a la rapidez del laboratorio en la tipificación del aislamiento y en las pruebas de sensibilidad. **29**

Tabla 3.5 Patrones de sensibilidad de las principales especies de *Candida* ³³

Especie	Fluconazol	Itraconazol	Voriconazol	Posaconazol	Anfotericina B	Candinas
<i>C. albicans</i>	S	S	S	S	S	S
<i>C. parapsilosis</i>	S	S	S	S	S	S a R
<i>C. glabrata</i>	S-DD a R	S-DD a R	S-DD a R	S-DD a R	S a I	S
<i>C. krusei</i>	R	S-DD a R	S	S	S a I	S
<i>C. tropicalis</i>	S	S	S	S	S	S

I: susceptibilidad intermedia, R: resistente, S: susceptible y S-DD: susceptible dependiente de la dosis

Tabla 3.6 Tratamientos de elección en las principales infecciones fúngicas invasivas por hongos filamentosos ^{2, 18, 20}

Género	Tratamiento de elección	Consideraciones
<i>Fusarium</i> sp.	Voriconazol, posaconazol, anfotericina B liposómica asociada a Voriconazol	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Anfotericina B desoxicolato es mejor tolerada por neonatos que por adultos ▪ Anfotericina B complejo lipídico o liposomal se sugiere en niños mayores y cuando se prevé un período prolongado de tratamiento
<i>Aspergillus</i> sp.	Voriconazol	

La reducción en la tasa de las fungemias no debe atribuirse únicamente al uso de tratamientos profilácticos o empíricos, ya que se tiene el problema del incremento de infecciones por especies de *Candida non-albicans* e incluso de hongos filamentosos, también debe analizarse la optimización de los procedimientos quirúrgicos, el manejo adecuado de inmunosupresores y antibióticos de amplio espectro, el control ambiental, el adecuado manejo de las infecciones hospitalarias y el apego a las guías de prevención de infecciones relacionadas con catéteres intravasculares y otros dispositivos. ^{7, 20, 35}

3.2 EL HEMOCULTIVO Y LOS SISTEMAS AUTOMATIZADOS COMO HERRAMIENTAS DE DIAGNÓSTICO

Un hemocultivo se define como una muestra de sangre obtenida de una única venopunción, independientemente del número de frascos o tubos inoculados con el espécimen, y utilizado para la detección de microorganismos en el torrente sanguíneo. ³⁷

La sensibilidad del hemocultivo es reducida, se estima en un 50%, sin embargo, se considera el método de elección para la detección y diagnóstico de las fungemias, siendo fundamentales para ello la correcta obtención de la muestra y su adecuado manejo, incluyendo su conservación, transporte al laboratorio y proceso. ⁵

3.2.1 Obtención y conservación de la muestra

La detección de infecciones del torrente sanguíneo depende de la correcta obtención de las muestras para hemocultivo, siendo fundamentales las técnicas y los procedimientos de asepsia, el número de muestras y el volumen óptimo. ²⁶

La calidad en la extracción de la muestra es un factor limitante tanto para la positividad (especificidad en el cultivo del verdadero microorganismo causante de la infección y reducción de falsos positivos), como para la agilidad en la obtención e interpretación de los resultados. ^{3, 32}

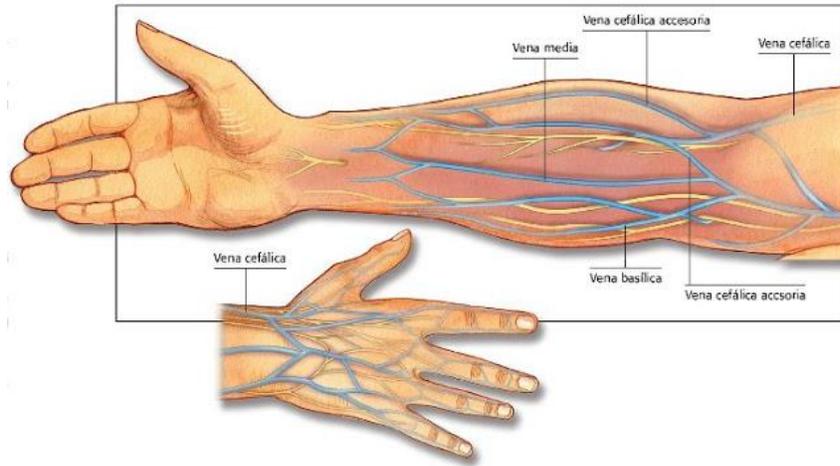
Los pasos y recomendaciones para la recolección de muestras en frascos comerciales para hemocultivo, son las siguientes: ^{26, 32, 50}

1. Selección del sitio de la toma de muestra
 - Seleccionar un sitio de punción diferente para cada hemocultivo, pudiendo seleccionar de forma indistinta una vena o una arteria, ya que la selección de una u otra no representan ninguna ventaja en cuanto al rendimiento

- Evitar la extracción de sangre a través de catéteres, excepto en los casos en los que no se pueda obtener por venopunción o se sospeche que éste sea el foco de infección
2. Preparación del sitio de toma de muestra
- Limpiar la piel con alcohol isopropílico al 70%
 - Continuar con una limpieza en el mismo sitio, en un diámetro de 2 a 3 pulgadas e iniciando por el centro, con una solución de iodo-povidona al 10% o gluconato-clorhexidina en el caso de neonatos o pacientes con sensibilidad al yodo
 - Permitir el secado natural y no tocar el área después de la limpieza
3. Preparación del frasco con medio de cultivo
- Indicar mediante una marca el nivel al que se encuentra el medio de cultivo, o bien, el nivel deseado, considerando siempre el volumen óptimo de acuerdo a las recomendaciones del fabricante y a la edad del paciente
 - Remover la tapa de seguridad del frasco y limpiar con una torunda impregnada con etanol al 70% y dejar secar
4. Punción
- Si la extracción se realiza mediante un equipo alado se debe supervisar que no se exceda el volumen recomendado
 - Si la extracción se realiza con aguja y jeringa, extraer el volumen recomendado e inocularlo de forma aséptica al frasco. No se recomienda que la aguja insertada en el sitio de punción sea remplazada por una segunda aguja antes de transferir la sangre al frasco, aunque hay una ligera disminución en la contaminación de

cultivos, este beneficio no compensa el riesgo para el flebotomista de lesiones por la aguja durante el intercambio

- Mezclar suavemente por inversión, cinco veces, para evitar la formación de fibrina y/o coágulos



(1)

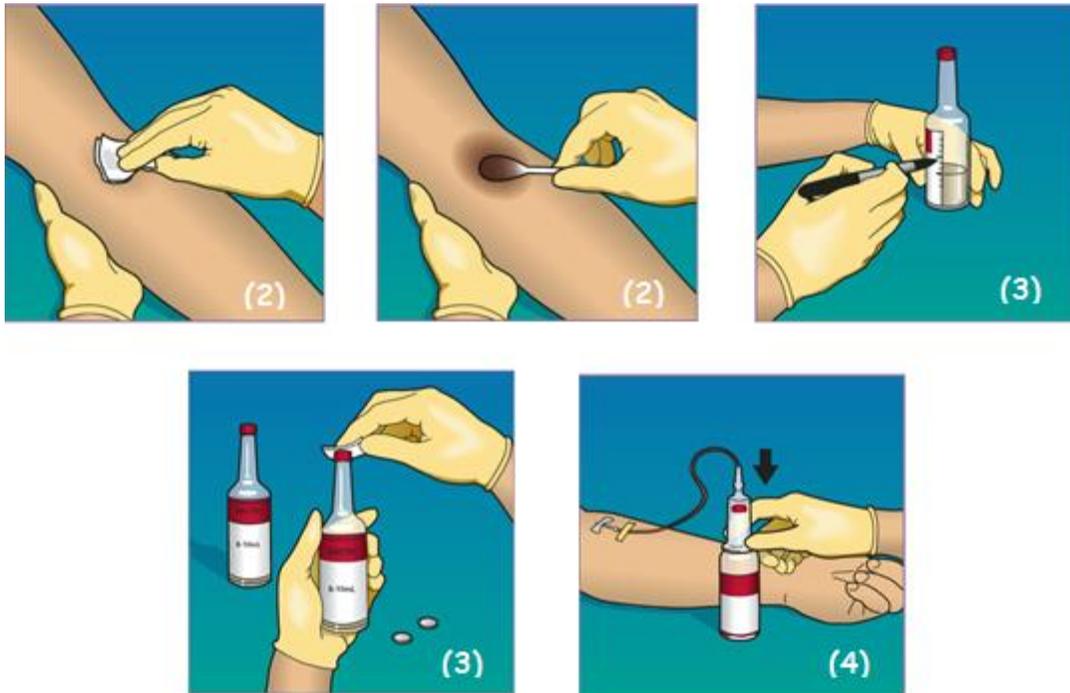


Fig. 3.2 Recolección de muestras en frascos comerciales para hemocultivo ⁵⁰

Después de la obtención de las muestras, éstas deben identificarse correctamente mediante un rotulado con los datos del paciente, y deben transportarse inmediatamente al laboratorio en contenedores adecuados y a temperatura ambiente, en donde el tiempo en el que se procesan no debe ser mayor a dos horas, pues la temperatura, el sobrecrecimiento bacteriano y/o algunas componentes de la sangre, pueden afectar la viabilidad de los microorganismos. **3, 5**

En cuanto a la frecuencia en la obtención de las muestras, su número y volumen, se tienen las siguientes recomendaciones:

Se ha demostrado que no hay diferencia significativa en la positividad de los hemocultivos obtenidos en un pico febril, y dado que éste, así como los demás síntomas son inespecíficos, no pueden ser empleados para predecir el momento óptimo para la recolección de las muestras, por ello se recomienda que se obtengan mínimo dos hemocultivos en un periodo de 30 minutos o de manera simultánea, cuando el paciente está siendo evaluado o antes de la administración o cambio de tratamiento, y los cultivos adicionales deben ser obtenidos después de un periodo de 24 horas, alcanzando tres o incluso cuatro hemocultivos para la detección óptima de bacteriemia y fungemia, sin embargo, en episodios agudos dos hemocultivos pueden ser suficientes. **3, 32, 45**

Los hemocultivos sucesivos se recomiendan cada 48 - 72 horas independientemente del estado clínico del paciente, para establecer el momento de la depuración microbiana. **16**

Respecto al volumen óptimo en muestras de pacientes pediátricos existen pocos trabajos publicados, y dado que en estos hay cierta dificultad en la obtención de las muestras, se recomienda no extraer

más del 1% del volumen total de sangre (calculado en base al peso del niño), siguiendo siempre las recomendaciones de los fabricantes según el sistema utilizado. **3, 26, 37**

3.2.2 Proceso para el diagnóstico preliminar: sistema automatizado

Tanto los frascos comerciales para hemocultivo como los equipos automatizados para su proceso, cuentan con ventajas importantes sobre las técnicas de cultivo convencionales.

Dado que ambos son sistemas cerrados, el origen de los contaminantes se limita a la piel o a la superficie de los catéteres, por lo que las tasas de contaminación son menores. **32**

Respecto a los frascos comerciales para hemocultivo, estos cuentan con suplementos que favorecen el desarrollo y detección de los microorganismos, pues la composición celular y molecular de la sangre y la localización intracelular del microorganismo también influyen de manera importante en el resultado final, permitiendo también la reducción en el volumen de muestra requerido. **27, 32**

Por otro lado, dos ventajas importantes de los equipos automatizados para el proceso de dichos frascos, son la agitación y el monitoreo continuo durante el periodo de incubación, mismos que permiten el desarrollo y la temprana detección de cultivos positivos. Más del 90% de todos los hemocultivos son detectados dentro de las primeras 48 horas, pudiendo extenderse el tiempo más allá de 5 a 7 días. **32**

Posterior a la obtención de un hemocultivo positivo se realiza un examen directo en fresco para obtener un diagnóstico preliminar, en este únicamente se reportará la presencia de blastoconidios, pseudofilamentos, estructuras filamentosas o cualquier otra forma micótica infectante.

El siguiente paso en el diagnóstico es el aislamiento y tipificación del microorganismo causante de la infección.

3.2.3 Proceso para el diagnóstico definitivo: métodos convencionales complementarios

La identificación de las especies aisladas se basa en la morfología tanto microscópica como macroscópica, así como en sus características bioquímicas; y los procedimientos de identificación dependen de si se trata de un hongo levaduriforme o filamentoso. **5, 11**

Para el diagnóstico definitivo se requiere el aislamiento y la tipificación del microorganismo desarrollado en los sistemas automatizados, para ello son de gran utilidad, en el caso de hongos levaduriformes, medios selectivos para el crecimiento de hongos, medios cromogénicos, pruebas de asimilación y fermentación de carbohidratos y detección enzimática, así como la identificación de sus características morfológicas; en el caso de hongos filamentosos, la adecuada recuperación del hongo en un medio selectivo permite su identificación mediante sus características tanto microscópicas como macroscópicas. **5, 13**

El medio de cultivo en placa CHROMagar™ *Candida* es un medio selectivo y diferencial para el aislamiento e identificación de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei*, así como de cultivos mixtos de éstas y otras

levaduras de este género. En este medio las colonias pueden identificarse por la producción de diferentes pigmentos derivados de la degradación de sustratos cromógenos incluidos en éste, y que son degradados por enzimas específicas presentes en cada una de las especies. Éstos medios contienen además antibióticos para inhibir el crecimiento bacteriano. **5, 31, 42, 48**

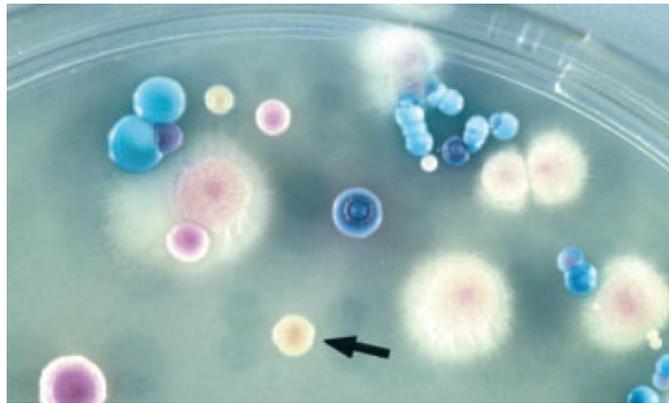


Fig. 3.3 Crecimiento de un cultivo mixto en CHROMagar™
Candida. Linares, 2007 ²⁸

Las pruebas de asimilación y fermentación de carbohidratos e identificación de enzimas pueden realizarse mediante kits comerciales. Dos ejemplos de estos kits son: el Panel para identificación rápida de levaduras MicroScan® y el Sistema de identificación de levaduras API® ID32C. **5, 42**

El primero utiliza un sistema cromógeno de 27 sustratos deshidratados que se rehidratan con una suspensión del hongo levaduriforme en estudio, el resultado se obtiene evaluando el virre producido por los cambios de pH o por la formación de complejos entre los productos y los reactivos reveladores, después de una incubación a 35-37°C por cuatro horas. **52**

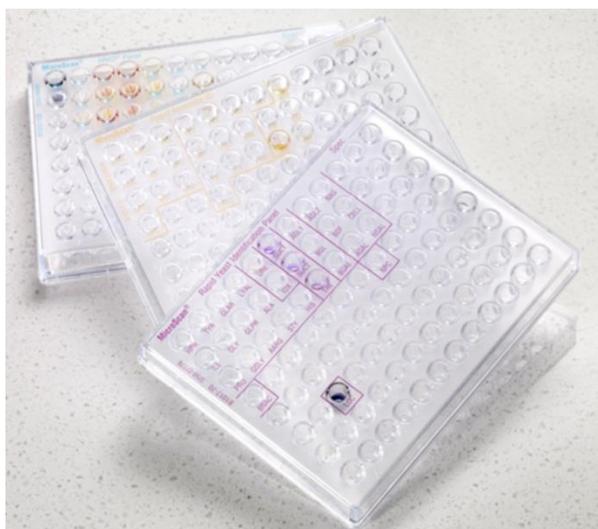


Fig. 3.4 Panel para identificación rápida de levaduras MicroScan®

El segundo es un sistema de 32 sustratos carbonados deshidratados, que al hidratarse con una suspensión del microorganismo en estudio e incubarse a $29 \pm 2^\circ\text{C}$ de 24 a 48 horas, se produce una turbidez en el medio evidenciando su crecimiento, y por ende, su capacidad para utilizar el sustrato correspondiente. ⁴⁷



Fig. 3.5 Sistema de identificación de levaduras API® ID32C

También pueden evaluarse características morfológicas específicas, como en la prueba de tubo germinativo o en la de producción de pseudomicelio y clamidoconidios. ^{5, 13, 42}

La primera se utiliza para la diferenciación de *C. albicans*. La cepa se siembra en 0.5 mL de suero humano y se incuba a 37°C por 2-2.5 horas, el resultado se comprueba mediante un examen directo en fresco o con alguna tinción como la de Gram, observando con el objetivo de inmersión (100x). **6, 31**

La producción de pseudomicelio y clamidoconidios se estudia en un medio en placa pobre en nutrientes como el *Corn meal* o el agar papa-zanahoria, a los que se le adiciona un 1% de tensoactivo (Tween 80), este se siembra por estría y se incuba a 25°C por 72 horas, la lectura se hace directamente con la placa en el microscopio, colocando una gota de colorante y un cubreobjetos sobre las colonias y observando con el objetivo 40x. **6, 42**



Fig. 3.6 A la izquierda, producción de tubo germinativo por *C. albicans*. A la derecha, formación de pseudomicelio y clamidoconidios por *C. albicans*. Linares, 2007 ²⁸

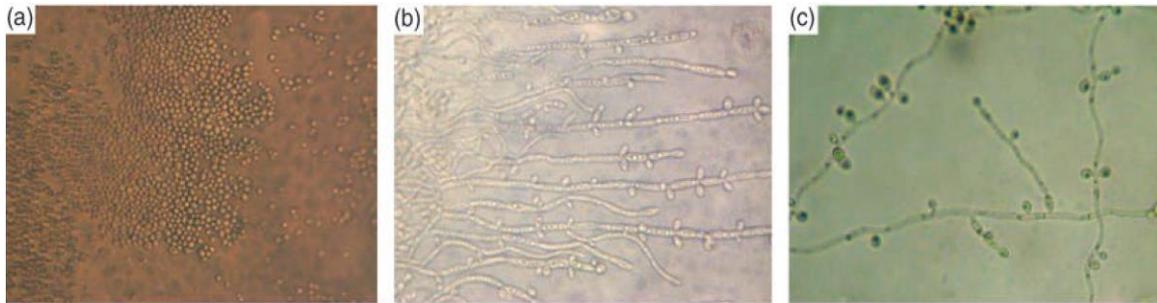


Fig. 3.7 Estructuras microscópicas sobre corn meal + Tween 80:
a) *C. glabrata*, b) *C. parapsilosis* y c) *C. tropicalis*. Silva, 2011 ⁴²

Tabla 3.7 Características macroscópicas y morfológicas que diferencian a las principales especies de *Candida* ^{19, 42}

Especie	Colonias en CHROMagar™ <i>Candida</i>	Producción de tubo germinativo	Hifas / pseudohifas
<i>C. albicans</i>	Verde claro a medio	+	+ / + (*)
<i>C. parapsilosis</i>	Color crema o rosa claro	-	- / +
<i>C. glabrata</i>	Color crema, rosa o violeta claro a oscuro	-	- / -
<i>C. tropicalis</i>	Azul grisáceo o metálico	-	± / +
<i>C. krusei</i>	Rosa con bordes blancos	-	- / +

(*) Además formación de clamidoconidios terminales o intercalares de 10-12 μm de diámetro con doble membrana

3.2.4 Interpretación y emisión del resultado

La interpretación de los resultados siempre debe asociarse a la situación clínica del paciente.⁵

Una vez identificado el microorganismo causante de la infección el resultado debe indicar el género y la especie del microorganismo y los resultados de sensibilidad antifúngica.

3.3 SISTEMA AUTOMATIZADO BD BACTEC™ 9120 Y MEDIO DE CULTIVO BACTEC™ MYCO/F LYTIC

3.3.1 Componentes del equipo y del medio de cultivo

El equipo automatizado BD BACTEC™ 9120 tiene una capacidad para procesar hasta 120 frascos de hemocultivos simultáneamente, está organizado en tres secciones designadas con las letras A, B y C, cada una con cuarenta estaciones. Cada estación cuenta con indicadores que permiten su rápida ubicación para el ingreso de nuevas muestras o para la extracción tanto de hemocultivos positivos como negativos, previamente identificados mediante lectores de códigos de barras.⁵¹

Trabaja a una temperatura de 35°C que puede ser monitoreada y controlada, un sistema de agitación constante para una máxima recuperación de microorganismos y un sistema interno de monitoreo continuo acoplado a una alarma audible para la detección oportuna de cultivos positivos.^{49, 51}

Cuenta también con un sistema de cómputo periférico que permite el monitoreo de las estaciones y de los hemocultivos desde el exterior.



Fig. 3.8 Equipo automatizado BD BACTEC™ 9120

El medio de cultivo BACTEC™ Myco/F Lytic es un medio no selectivo para la recuperación de micobacterias, hongos levaduriformes y filamentosos del torrente sanguíneo, también puede ser utilizado para el cultivo de fluidos estériles cuando se sospecha de una infección por hongos levaduriformes o filamentosos. **49**

Este medio de cultivo tiene entre sus componentes principales: **37, 49**

- Citrato férrico amónico como fuente de hierro
- Saponina para la lisis de eritrocitos y leucocitos, en el primer caso para la liberación de algunos nutrientes requeridos por algunos microorganismos y en el segundo para la liberación de microorganismos fagocitados
- Polianetolsulfonato sódico (SPS) que previene la formación de fibrina, coágulos e inhibe la fagocitosis

- Proteínas y azúcares específicos para el aporte de suplementos nutritivos

**Fig. 3.9 Frasco de cultivo
BACTEC™ Myco/F Lytic**



El volumen aceptado para dichos frascos es de 1 a 5 mL, siendo el volumen óptimo de 3 a 5 mL. **49**

3.3.2 Fundamento del sistema

Cada uno de los frascos contiene un sensor fluorescente que responde a la concentración de bióxido de carbono (CO_2) presente en el medio, el cual es liberado por el metabolismo de los microorganismos. **49, 51**

Dicho sensor es monitoreado cada 10 minutos para medir el nivel de fluorescencia, el cual es proporcional a la cantidad de CO_2 liberado, indicando así la presencia de microorganismos viables dentro del frasco. **49, 51**

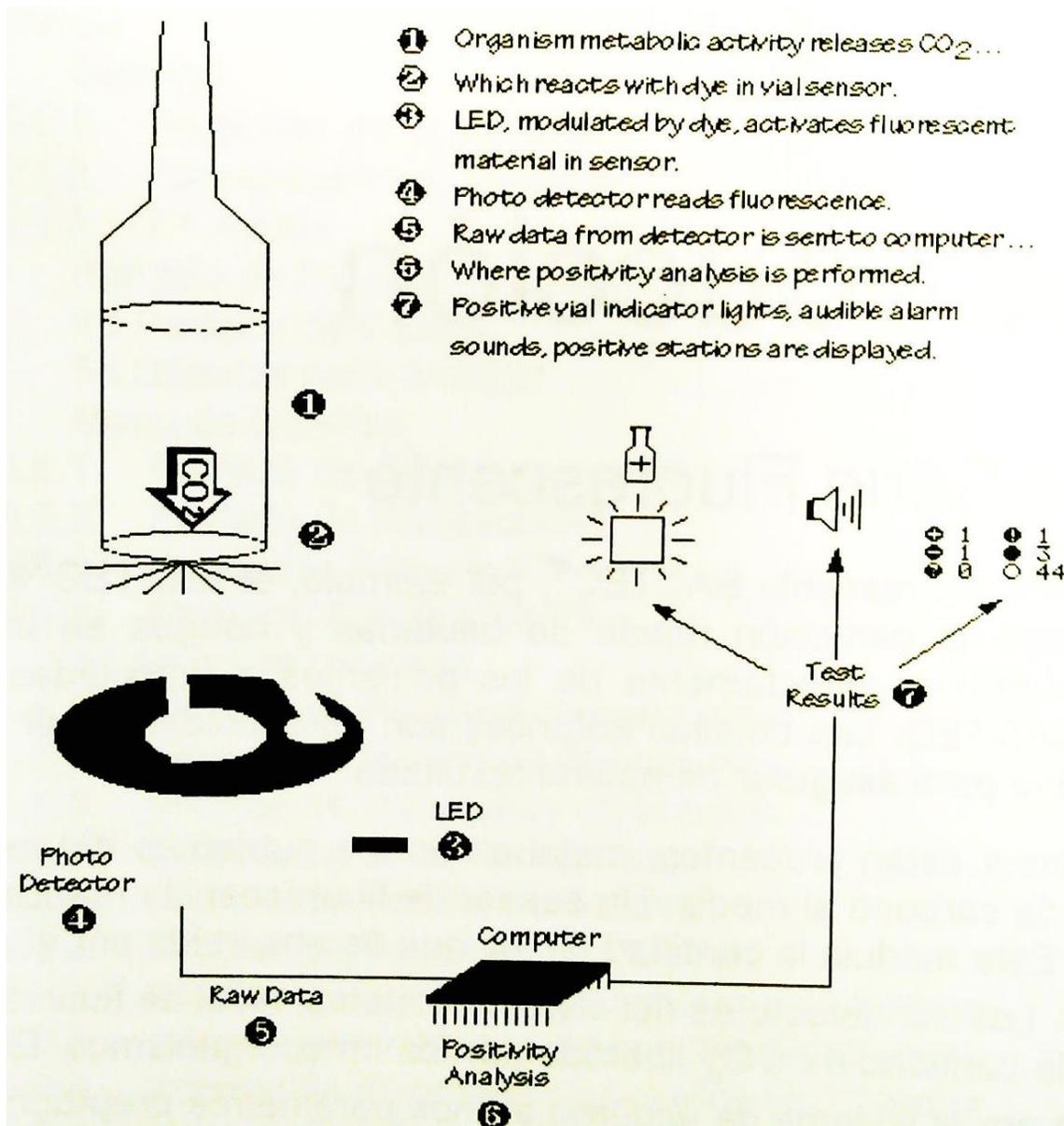


Fig. 3.10 Interpretación de un cultivo positivo mediante el sistema de fluorescencia ⁵¹

El protocolo de análisis recomendado es de siete días para los hongos levaduriformes y de treinta días para los hongos filamentosos. ⁴⁹

3.3.3 Procedimiento de diagnóstico en el laboratorio de Parasitología y Micología del Instituto Nacional de Pediatría

- ❑ Entrega del medio de cultivo al personal médico o al servicio de Toma de productos

El proceso de diagnóstico inicia con la entrega del medio de cultivo al personal médico en el caso de pacientes hospitalizados, o al servicio de Toma de productos en el caso de pacientes de consulta externa.

Cada una de las salidas se registra en el formato **“Control de medios”**, en este se anota la fecha, el código de barras que se encuentra impreso en la etiqueta del frasco, el nombre de quien lo solicita, el servicio hospitalario y la extensión del mismo, quedando un espacio disponible en donde se anota la fecha en el que el hemocultivo es devuelto para su proceso.

Cada uno de los frascos tiene una escala impresa en la etiqueta, misma que sirve de guía para obtener el volumen de muestra recomendado, en esta escala deberá indicarse mediante una marca el nivel al que se encuentra el medio de cultivo.

- ❑ Validación de la muestra

Cuando el hemocultivo es devuelto al laboratorio se verifica que los datos de la requisición correspondan con el rotulado del frasco, mismo que debe venir en el cuello para evitar tanto la obstrucción del código de barras como la visibilidad del volumen de muestra, se verifica además el volumen recolectado y que no contenga coágulos y/o fibrina. Si existe

alguna condición que influya sobre los resultados se informa al médico, haciendo énfasis en la importancia de la entrega de la serie de tres.

También se verifica el correcto llenado de la solicitud de estudios, si existe alguna omisión o error se informa al médico para que sea completada o corregida.

Una vez validado el hemocultivo se ubica mediante el código de barras **en el formato "Control de medios" y se registra la fecha de recepción.**

❑ Proceso de la muestra y emisión del resultado

Para dar seguimiento a cada una de las muestras, éstas se registran en **la "Bitácora de resultados de Micología", en ella se anotan** tanto los datos del paciente como los del hemocultivo, asignando un número consecutivo que identifica a la muestra durante todo el proceso.

Con el número de identificación los hemocultivos se ingresan al equipo BD BACTEC™ 9120, en donde se incuban hasta que sean detectados como positivos, o bien, aquellos que no registran ningún crecimiento durante los primeros siete días, se incuban durante tres semanas adicionales, si al final de este período son negativos se retiran del equipo y se emite el reporte de hemocultivo negativo.

Los cultivos positivos se retiran del equipo y se realiza un diagnóstico preliminar mediante un examen directo en fresco, el resultado se informa como examen directo positivo con presencia de blastoconidios, pseudofilamentos o estructuras filamentosas.

En esta fase también se realiza un subcultivo en Agar Dextrosa de Sabouraud (ADS) y uno más en ADS adicionado con cloranfenicol, los cuales se incuban a 28°C hasta que presenten desarrollo en un lapso de 7 días.

Cuando se ha desarrollado una colonia se le realiza un examen directo y se procede a su identificación o a realizar las resiembras correspondientes:

- Si se trata de un hongo filamentoso el examen directo se realiza mediante la técnica de impronta con diurex, para ello se presiona un fragmento de esta cinta adhesiva sobre la colonia, se sitúa sobre un portaobjetos con una gota de colorante azul de lactofenol, se coloca un cubreobjetos y se observa con los objetivos 10x y 40x. La identificación se realiza conjuntando las características microscópicas y macroscópicas de las colonias, si no se logra dicha identificación se realiza una resiembra en agar papa por picadura con asa micológica, para favorecer el crecimiento de las estructuras de reproducción y facilitar su identificación, estos medios se incuban a 28°C hasta que presenten desarrollo.
- En el caso de hongos levaduriformes el examen directo se realiza mezclando en un portaobjetos una gota de colorante azul de lactofenol y una asada de la colonia en estudio, se coloca un cubreobjetos y se observa con los objetivos 10x y 40x. Para la identificación de hongos levaduriformes del género ***Candida*** se realiza una resiembra en CHROMagar™ por estría de agotamiento, se incuba a 37°C durante 48 horas y se procede a la identificación de las colonias, la cual se confirma posteriormente mediante la

inoculación en placas de tipificación comerciales MicroScan[®] y/o API[®] ID32C.

Una vez tipificado el hongo se emite el reporte final especificando su género y especie.

A los subcultivos que resultaron negativos en los primeros 7 días se les da seguimiento durante tres semanas adicionales, si se desarrolla algún tipo de crecimiento en este periodo se procede a su identificación de la misma forma.

En el caso de subcultivos con desarrollo de bacterias y aquellos que resulten negativos después de cuatro semanas, se realiza el reporte final indicando un cultivo negativo para estructuras micóticas.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio retrospectivo observacional realizado con datos de los hemocultivos para recuperación de hongos, tomados a pacientes pediátricos de todas las edades (1 semana a 18 años) y procesados mediante el sistema automatizado BD BACTEC™ 9120 durante el período del 16 de Julio del 2009 al 31 de Diciembre del 2012, en el Laboratorio de Parasitología y Micología del INP.

La información obtenida de cada uno de los hemocultivos procesados fue: fecha de salida y regreso al laboratorio, nombre del paciente, género, edad, número de registro, servicio hospitalario, diagnóstico, número de hemocultivos recibidos por paciente, en los casos positivos además, tiempo en el que el hemocultivo se reportó positivo, género, y en el caso de levaduras también la especie aislada, así mismo, los factores de riesgo asociados a fungemia se obtuvieron de cada uno de los expedientes de los casos positivos.

Parte de la información se comparó además con un estudio realizado con datos del 15 de Julio del 2008 al 14 de Julio del 2009 en el que se estudió la técnica manual empleada anteriormente en el mismo laboratorio. ⁸

Previo a dicho estudio se efectuó de forma práctica el procedimiento que se sigue en el laboratorio para el proceso de los hemocultivos, esto con el fin de conocer la técnica y detectar los puntos fundamentales y de mejora en el proceso.

A continuación se presenta mediante diagramas dicha metodología y los procesos relacionados:

Diagrama 4.1

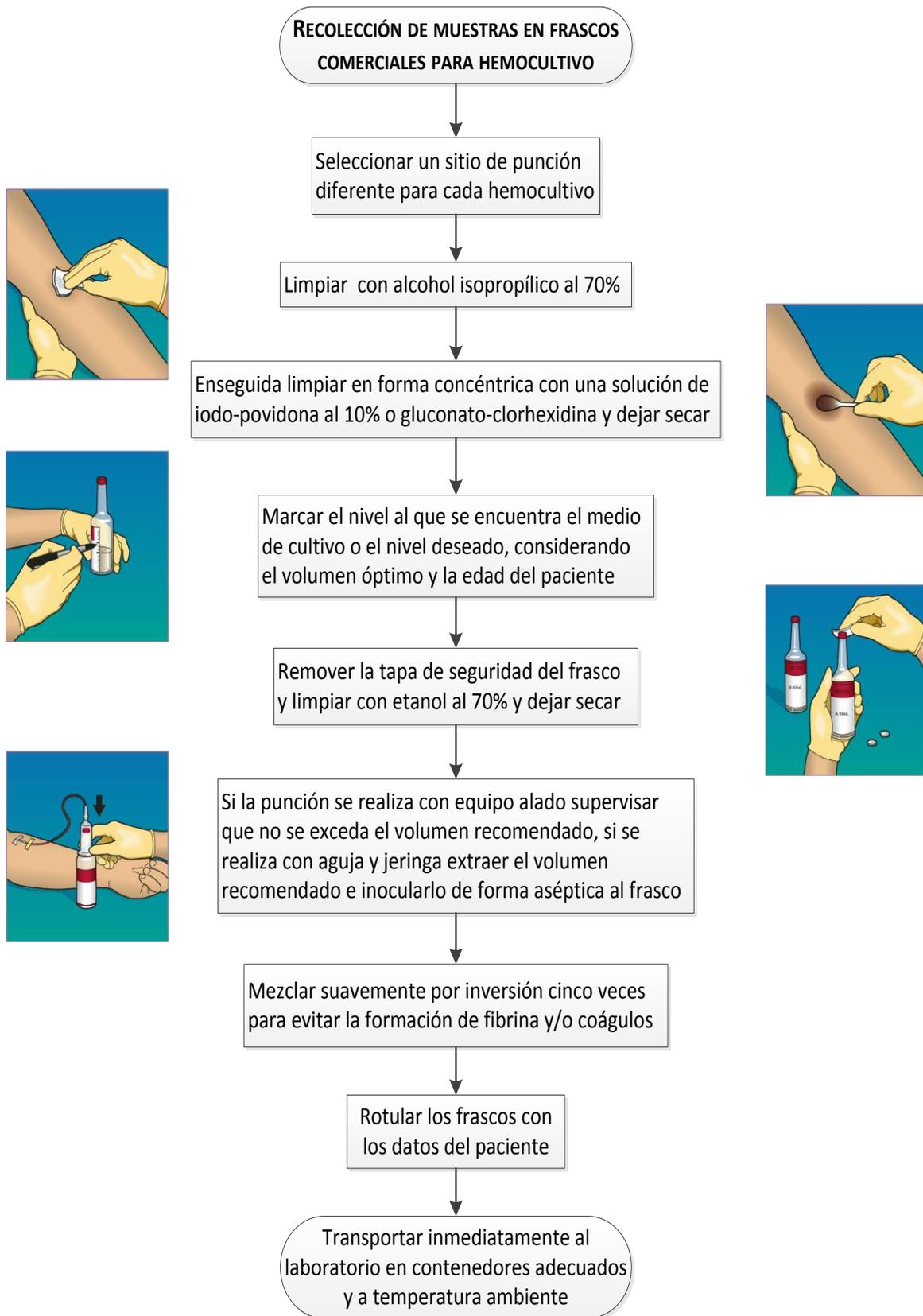


Diagrama 4.2

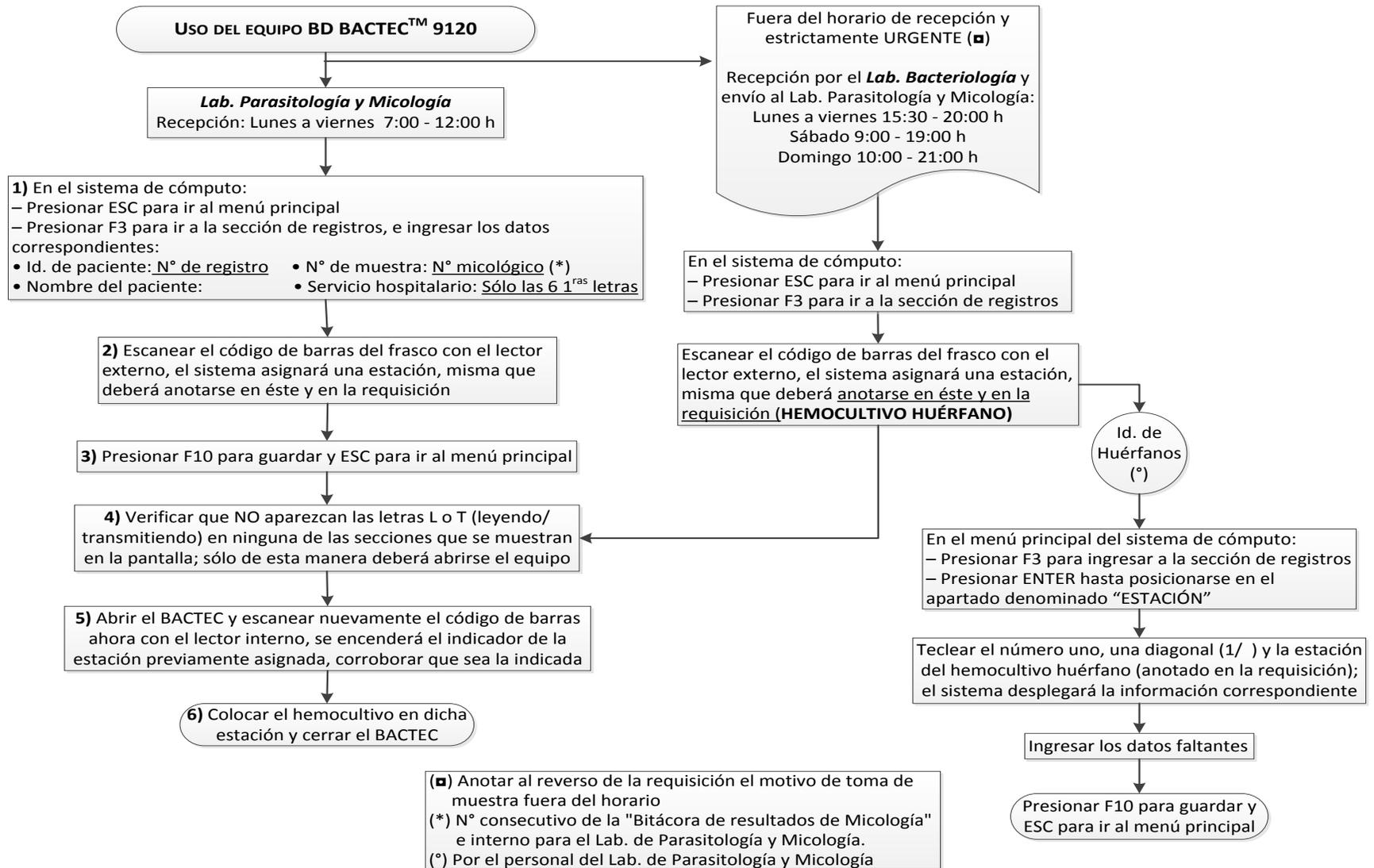
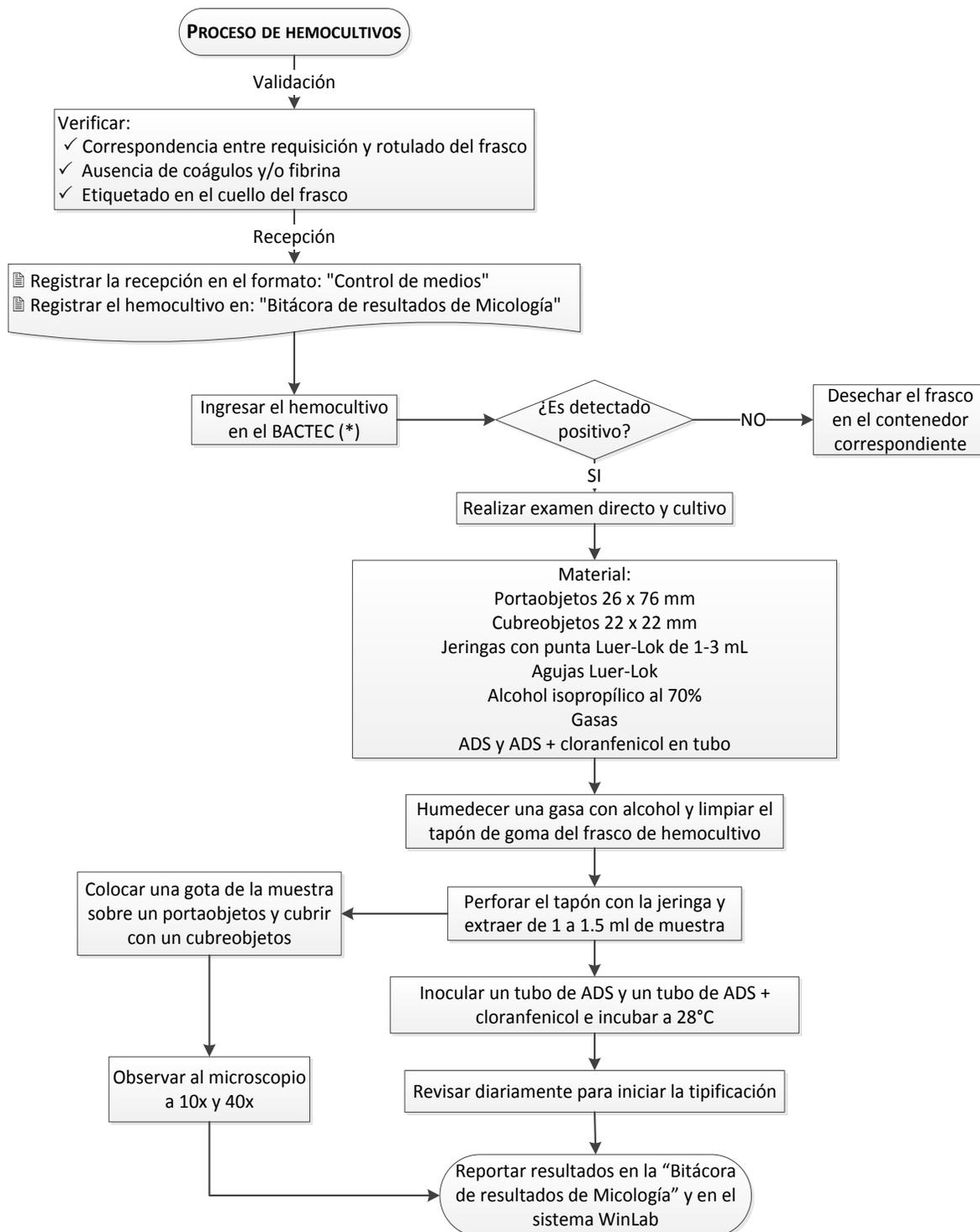
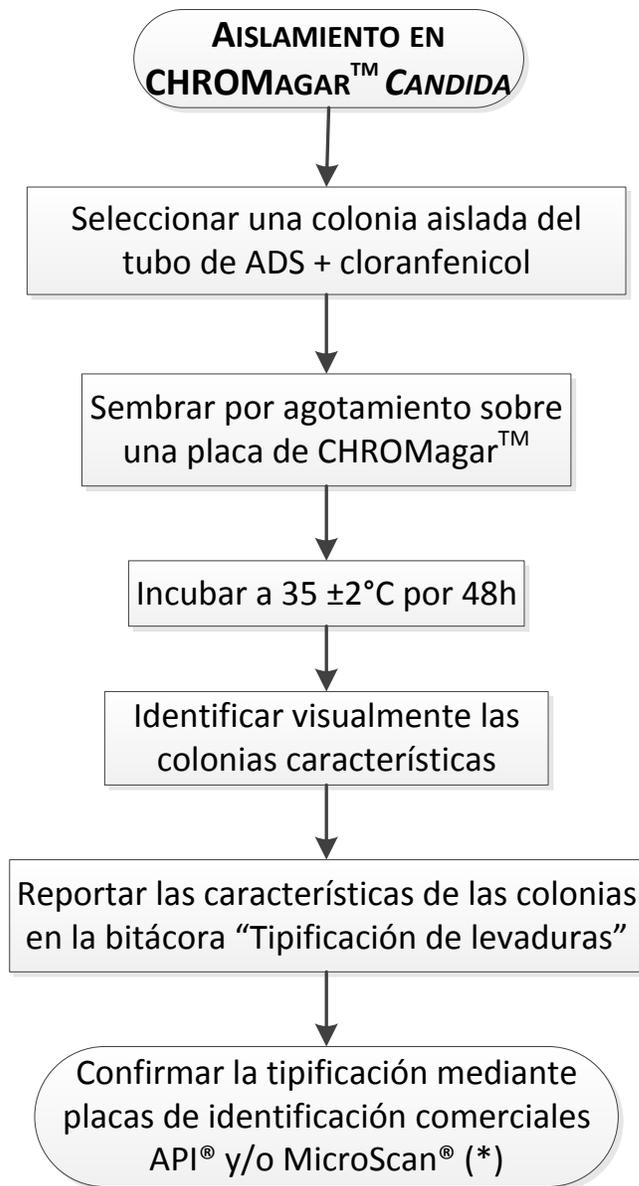


Diagrama 4.3



(*) Ver diagrama:
"Uso del equipo BD BACTEC™ 9120"

Diagrama 4.4



(*) Ver diagrama:
"Tipificación mediante placas MicroScan®" y
"Tipificación mediante placas API® ID32C"

Diagrama 4.5

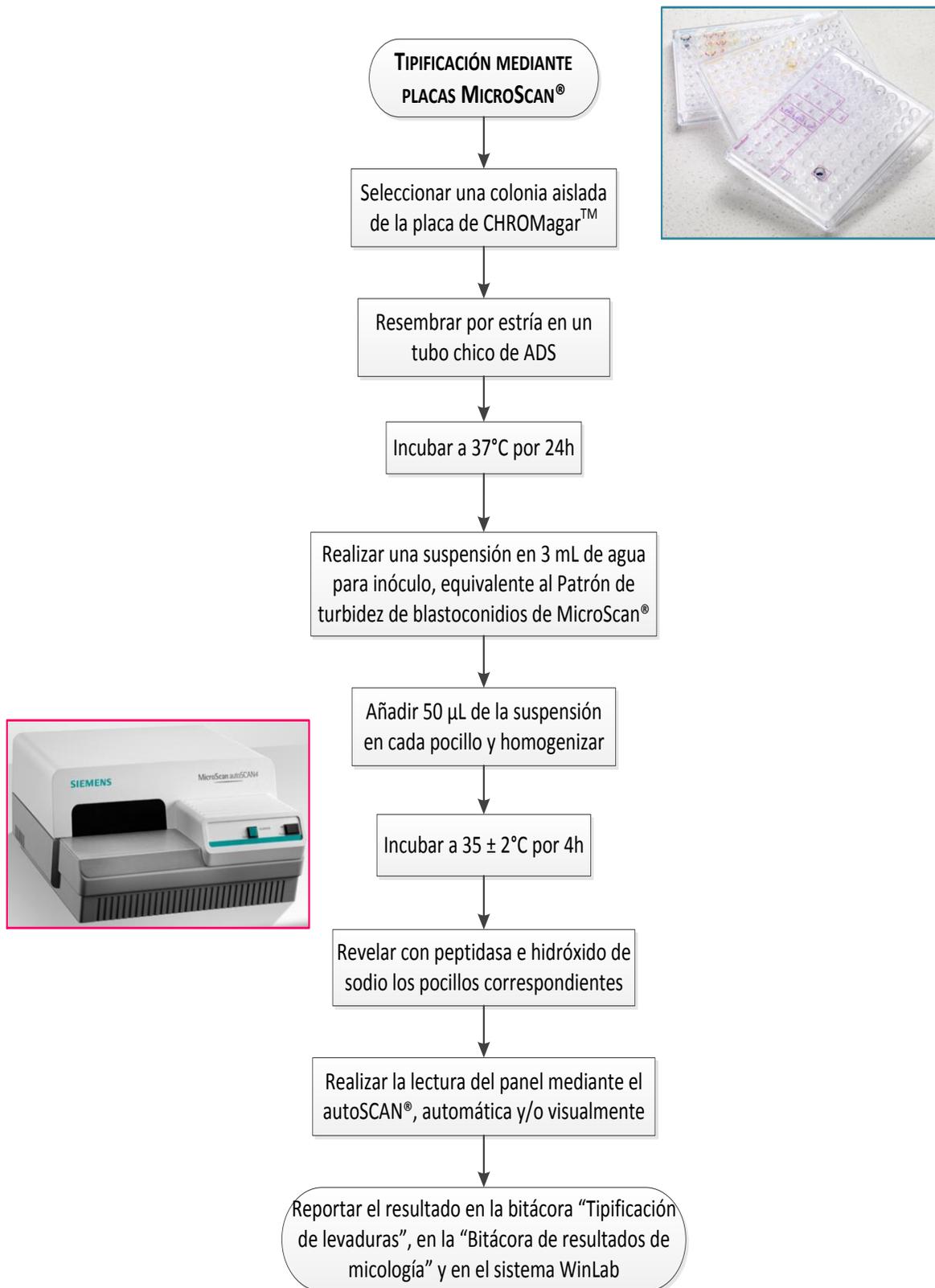


Diagrama 4.6

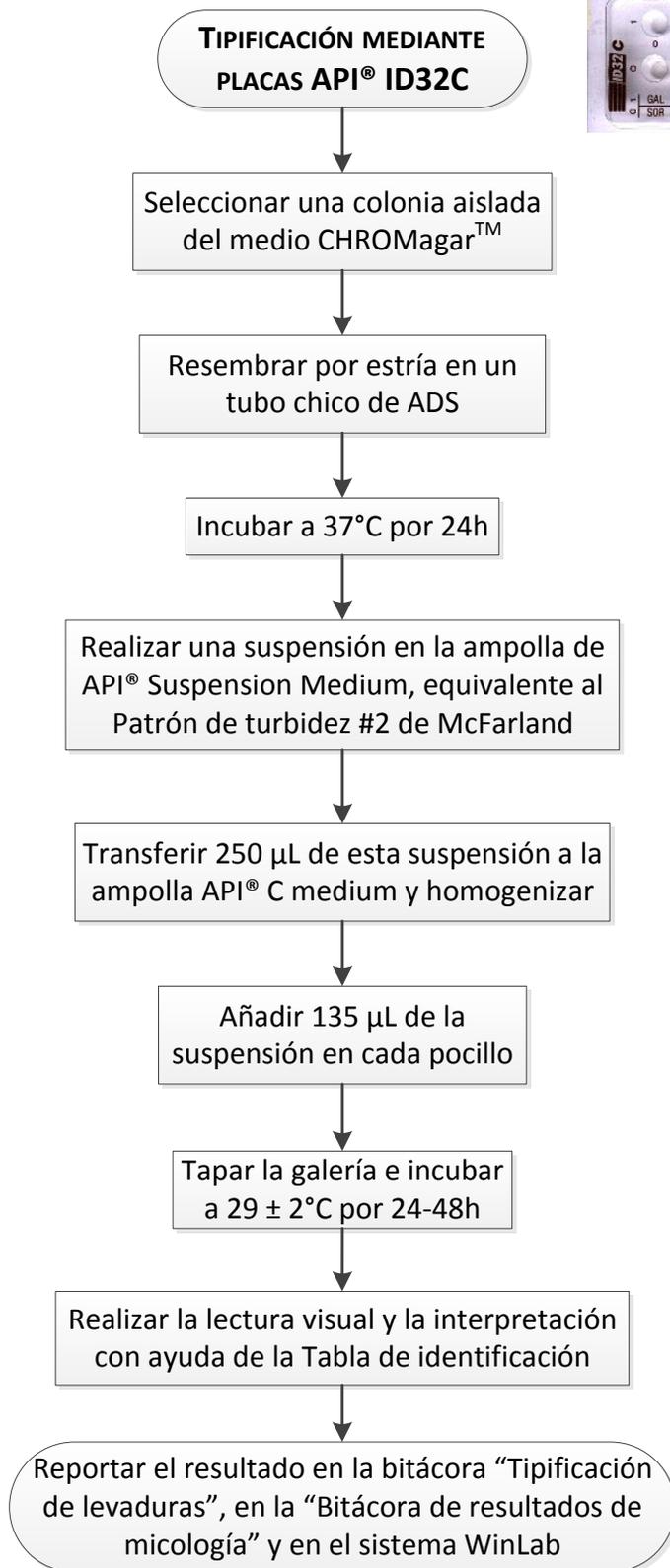
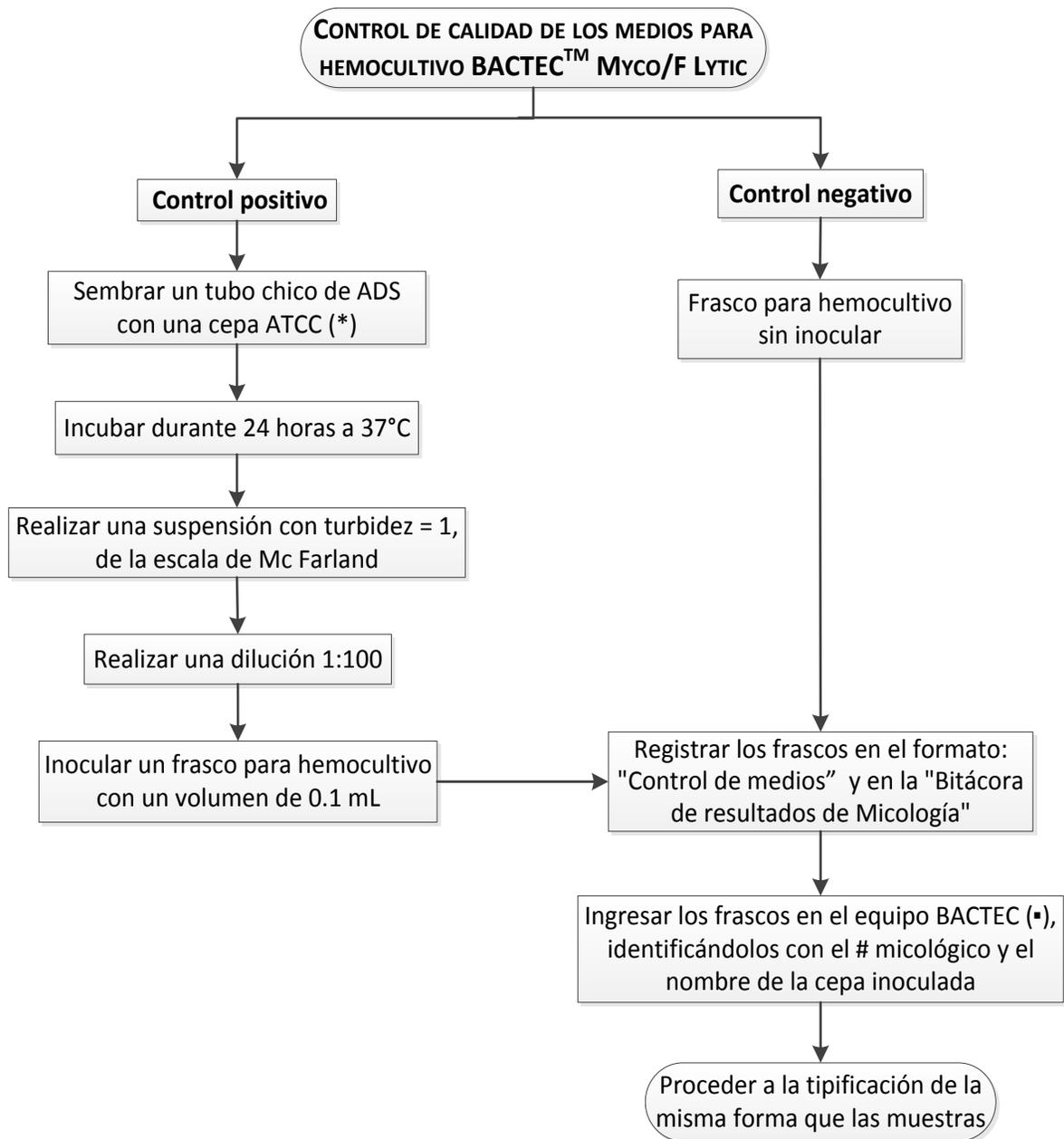


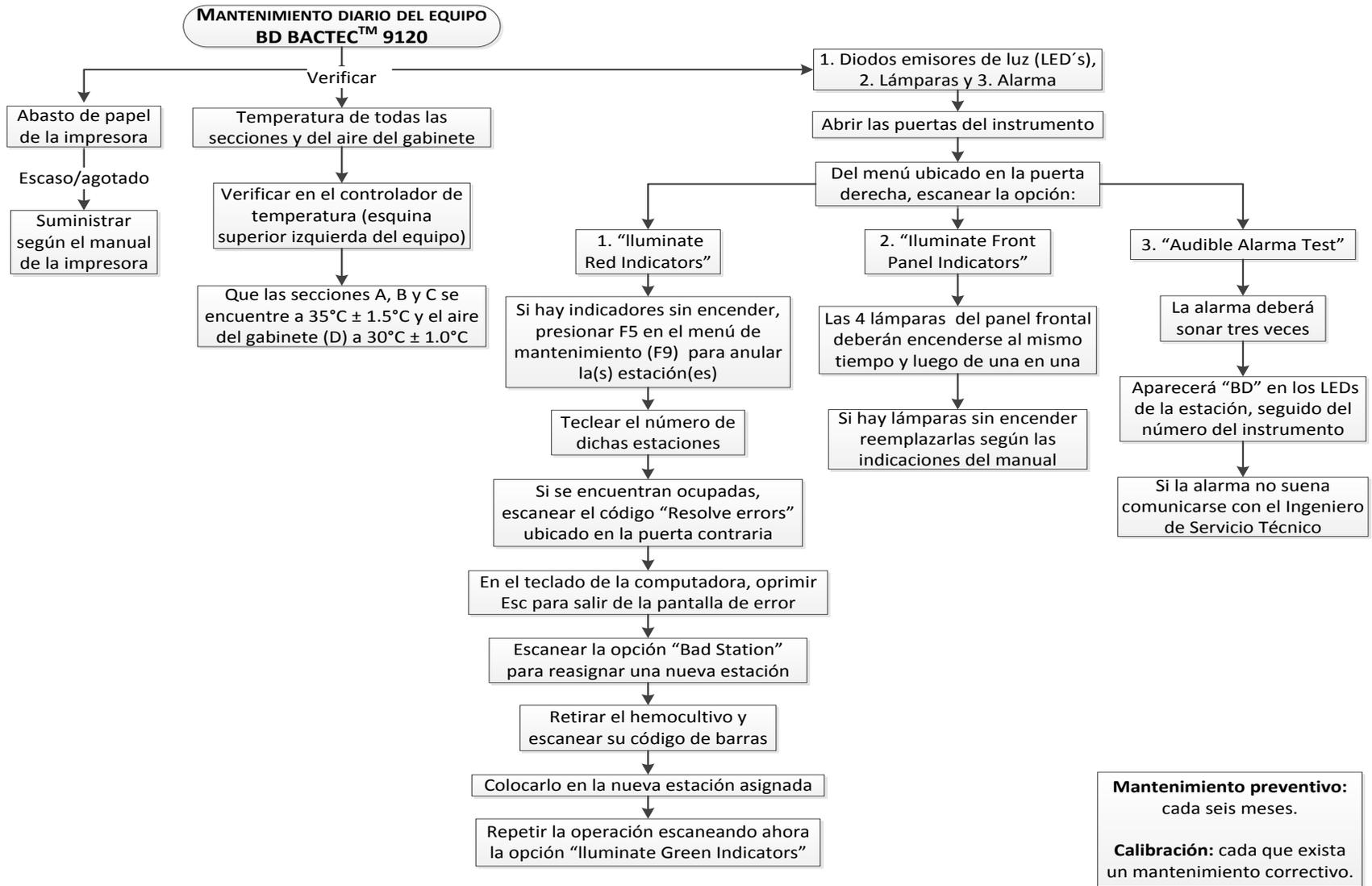
Diagrama 4.7



(*) Cepas recomendadas en el inserto de los medios BACTEC™ Myco/F Lytic:
Candida glabrata, ATCC 15545
Cryptococcus neoformans, ATCC 13690

(▪) Ver diagrama:
"Uso del equipo BD BACTEC™ 9120"

Diagrama 4.8



5. RESULTADOS

Los resultados del trabajo se dividieron en tres partes, en la primera parte se abordan los aspectos más importantes del estudio comparativo entre el método manual y el método automatizado; en la segunda parte se reúnen la información obtenida de los expedientes clínicos de cada uno de los pacientes con hemocultivos positivos para hongos detectados mediante el sistema automatizado, y en la tercera parte se reúne información sobre algunos de los factores relacionados con los hemocultivos, que inciden en la detección oportuna de fungemia, dicha información fue obtenida de los registros del laboratorio.

Durante el periodo del 16 de julio del 2009 al 31 de diciembre del 2012 se procesaron 3134 hemocultivos procedentes de 1023 pacientes de 1 semana a 18 años de edad. De dichos hemocultivos 59 resultaron positivos para hongos, procedentes de 28 pacientes hospitalizados. En el caso del método manual se recurrió a un estudio realizado con datos del 15 de Julio del 2008 al 14 de Julio del 2009, en este caso se estudiaron 1165 muestras, de las cuales 5 resultaron positivas para hongos. ⁸

COMPARATIVO ENTRE EL MÉTODO MANUAL Y EL MÉTODO AUTOMATIZADO

Gráfico 5.1 Positividad comparada de dos métodos para búsqueda de hongos, por medio de hemocultivo

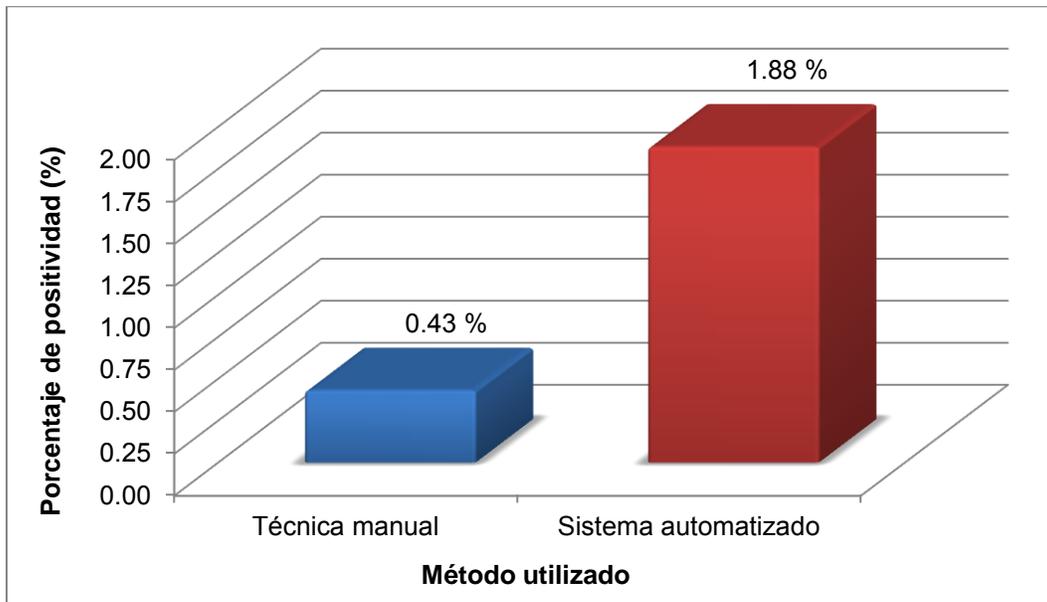


Gráfico 5.2 Comparación de microorganismos recuperados mediante los dos métodos

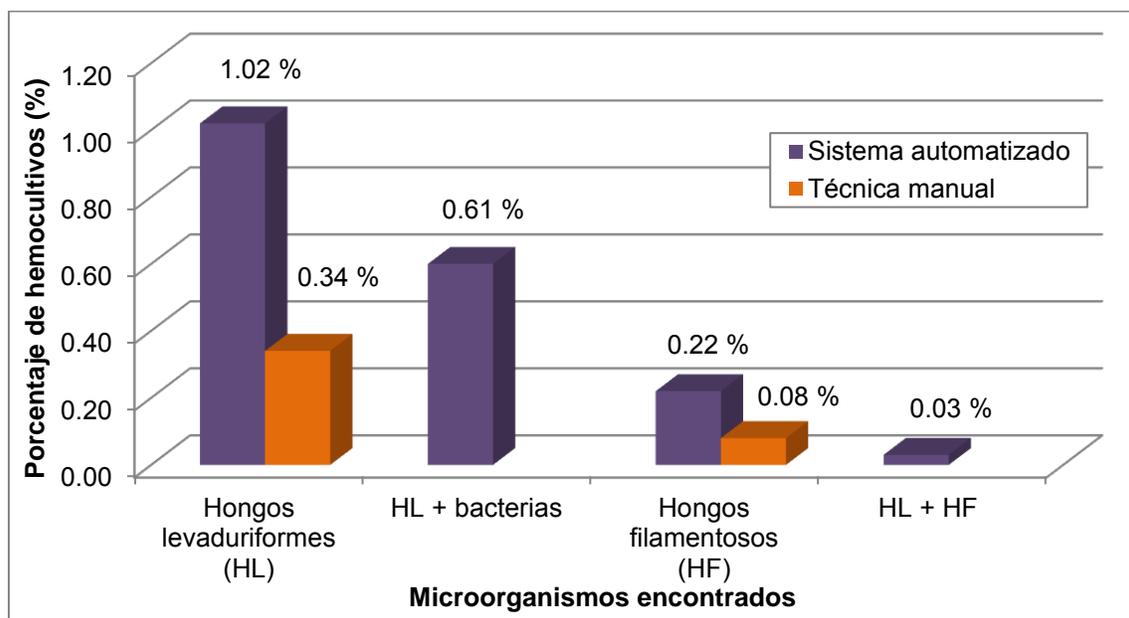


Tabla 5.1 Recuperación global de hongos levaduriformes mediante los dos métodos

Especie aislada	SISTEMA AUTOMATIZADO		TÉCNICA MANUAL	
	# de aislamientos	% de aislamientos	# de aislamientos	% de aislamientos
<i>C. parapsilosis</i>	22	42.31	1	25.00
<i>C. albicans</i>	20	38.46	3	75.00
<i>C. glabrata</i>	7	13.46	0	0.00
<i>C. tropicalis</i>	2	3.85	0	0.00
No hubo desarrollo	1	1.92	0	0.00
TOTAL	52	100.00	4	100.00

Gráfico 5.3 Recuperación global de hongos levaduriformes mediante los dos métodos

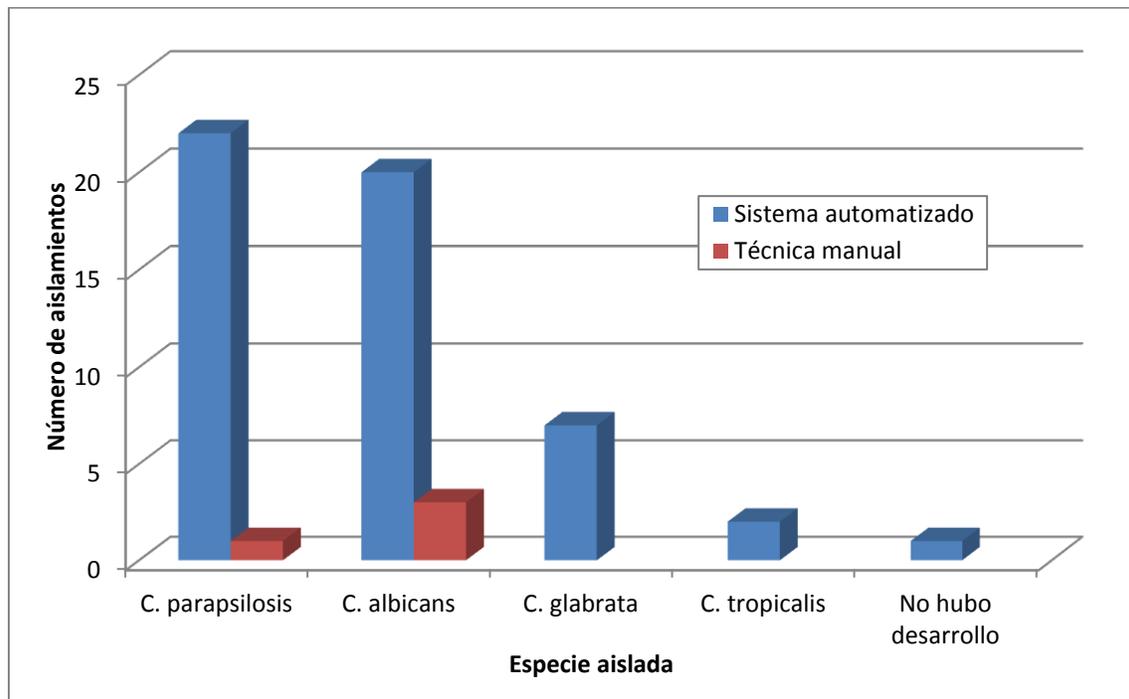
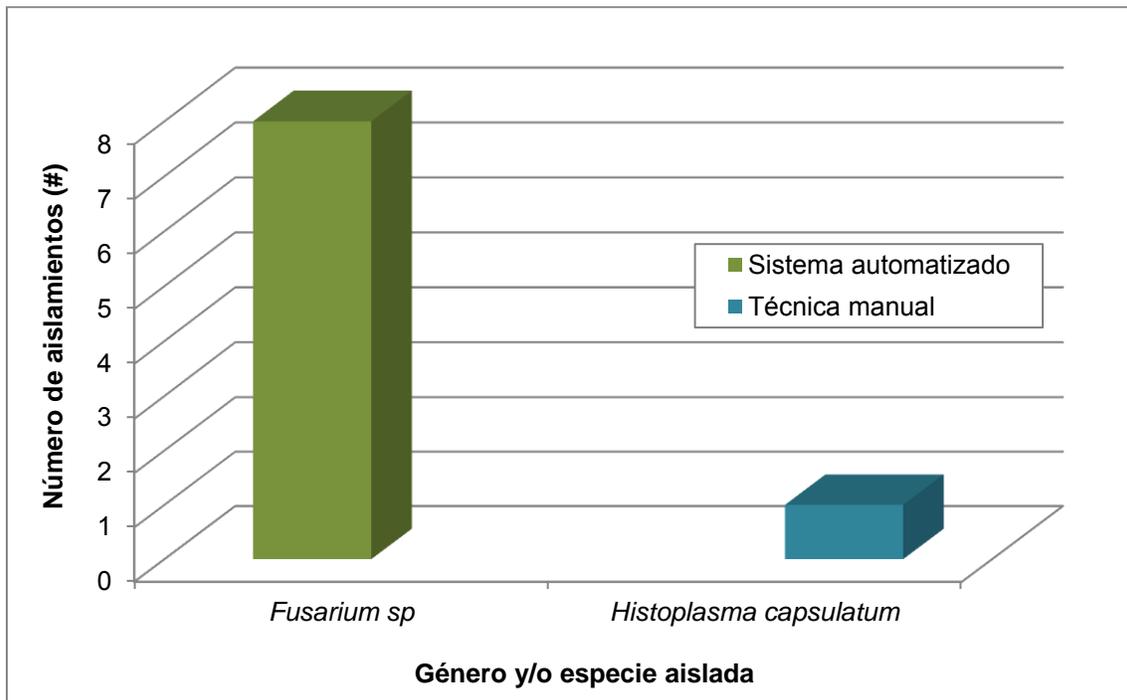


Tabla 5.2 Recuperación global de hongos filamentosos mediante los dos métodos

Género / especie aislada	SISTEMA AUTOMATIZADO		TÉCNICA MANUAL	
	# de aislamientos	% de aislamientos	# de aislamientos	% de aislamientos
<i>Fusarium</i> sp.	8	100.00	0	0.00
<i>Histoplasma capsulatum</i>	0	0.00	1	100.00
TOTAL	8	100.00	1	100.00

Gráfico 5.4 Recuperación global de hongos filamentosos mediante los dos métodos



INFORMACIÓN DE LOS CASOS POSITIVOS PARA HONGOS, DETECTADOS MEDIANTE EL SISTEMA AUTOMATIZADO

Los 59 hemocultivos analizados corresponden a 28 pacientes, mismos que se distribuyen por género y edad de la siguiente forma:

Tabla 5.3 Distribución de especies respecto al género y a la edad

Género y/o especie aislada	F	M	RN (1-28d)	Lactante (1m-2a)	Preescolar (3-5a)	Escolar (6-11a)	Adolescente (12-18a)
<i>C. albicans</i>	4	7	1	5	1	1	3
<i>C. parapsilosis</i>	5	4	0	7	2	0	0
<i>C. glabrata</i>	1	1	0	1	1	0	0
<i>C. tropicalis</i>	0	1	0	1	0	0	0
NHD	0	1	0	1	0	0	0
<i>Fusarium</i> sp.	0	2	0	0	1	0	1
<i>C. albicans</i> y <i>C. parapsilosis</i> (*)	1	0	0	0	0	1	0
<i>C. parapsilosis</i> + <i>Fusarium</i> sp. (**)	1	0	0	1	0	0	0
TOTAL	12	16	1	16	5	2	4

* Aisladas de cultivos independientes

** Aisladas del mismo hemocultivo

Gráfico 5.5 Distribución de especies respecto al género

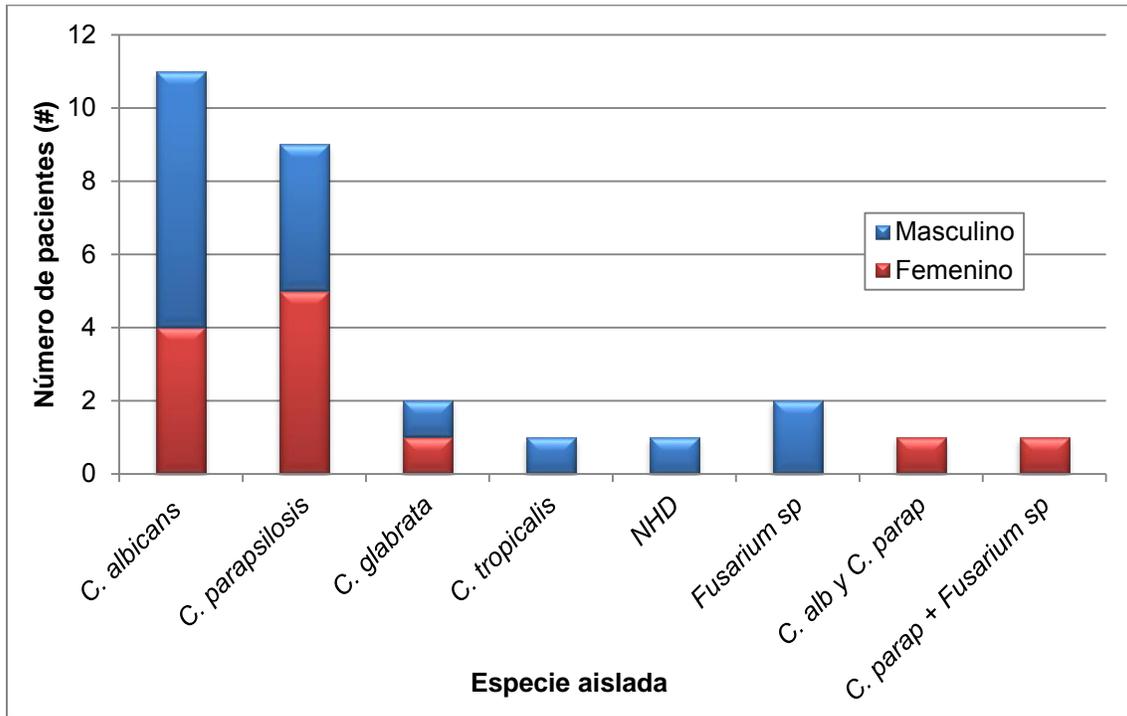
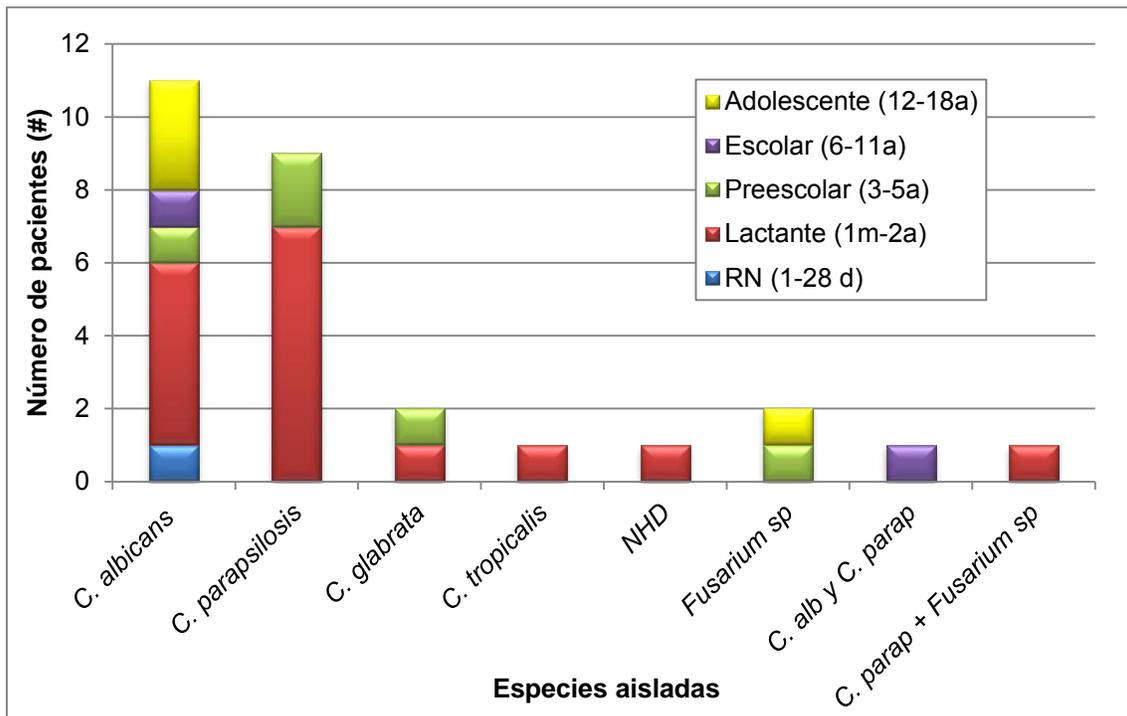


Gráfico 5.6 Distribución de especies respecto a la edad



El número de aislamientos obtenidos del subcultivo en ADS y ADS + cloranfenicol, así como el número de pacientes de los cuales se obtuvieron y al servicio al que pertenecían, se distribuye como sigue:

Tabla 5.4 Aislamiento y tipificación de hongos levaduriformes por servicio hospitalario

Servicio hospitalario	<i>C. albicans</i>		<i>C. parapsilosis</i>		<i>C. glabrata</i>		<i>C. tropicalis</i>		NHD		<i>Fusarium</i> sp.		<i>C. albicans</i> y <i>C. parapsilosis</i>		<i>C. parapsilosis</i> + <i>Fusarium</i> sp.		# TOTAL de aislamientos	# TOTAL de pacientes	
	# de aislamientos	# de pacientes	# de aislamientos	# de pacientes	# de aislamientos	# de pacientes	# de aislamientos	# de pacientes	# de aislamientos	# de pacientes	# de aislamientos	# de pacientes	# de aislamientos	# de pacientes	# de aislamientos	# de pacientes			
UTIP	4	3	5	2	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	(1) ^{••}	11	6
Infectología	4	2	1	1	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	4
Inmunología	7	2	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9	4
Oncología	1	1	2	1	0	0	0	0	0	0	4	2	0	0	0	0	0	7	4
Urgencias	1	1	0	0	1	(1) ^{××}	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	3	2
Gastronutrición	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3 ^{°°}	1	0	0	0	4	2
Hematología	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2	(1) ^{✓✓}	0	0	0	0	0	2	0
Neonatología	1	1	7	2	0	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	4
Cirugía	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	(1) ^{**}	0	0	0	0	0	2	1
Cardiología	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1
TOTAL	19	11	19	10	7	2	2	1	1	1	7	2	3^{°°}	1	1	--	59	28	

•• Mismo paciente con 1 aislamiento de *C. parapsilosis* también en la UTIP

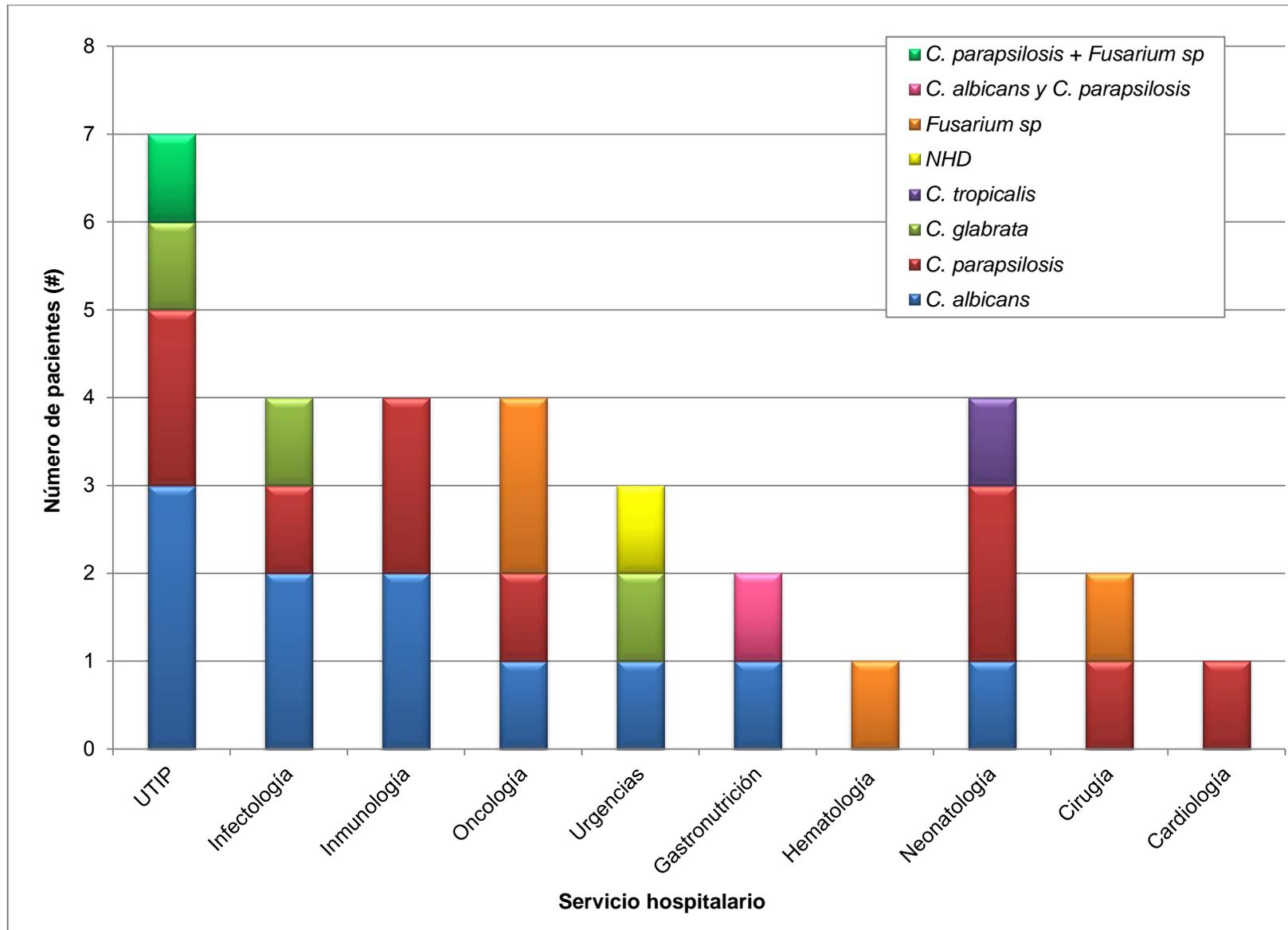
×× Mismo paciente con 5 aislamientos de *C. glabrata* en el servicio de Infectología

✓✓ Mismo paciente con 3 aislamientos de *Fusarium* sp. en el servicio de Oncología

** Mismo paciente con 1 aislamiento de *Fusarium* sp. en el servicio de Oncología

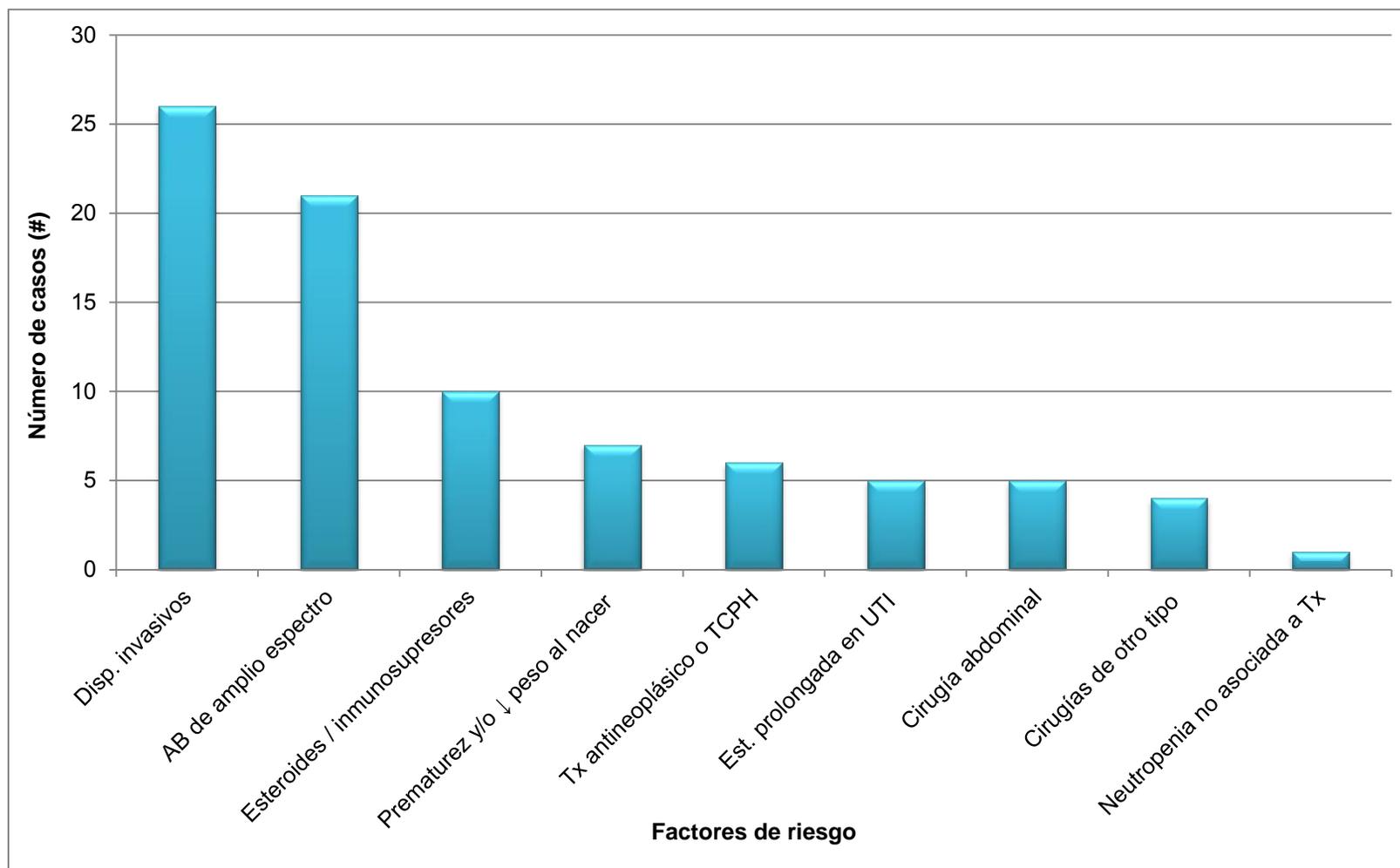
°° 2 hemocultivos con *C. parapsilosis* + 1 con *C. albicans*

Gráfico 5.7 Número de pacientes por servicio, respecto a las especies aisladas



Los factores de riesgo asociados a fungemia, detectados en este estudio, se distribuyen de la siguiente forma:

Gráfico 5.8 Incidencia de factores de riesgo asociados a fungemia



Enseguida se presenta la información referente a infecciones simultáneas a la fungemia en los pacientes de este estudio:

Tabla 5.5 Infecciones simultáneas a la fungemia

Microorganismo aislado simultáneamente	# de pacientes	% de pacientes	Sitio o material biológico de aislamiento
Hongos levaduriformes y bacterias	8	29.63	<i>C. albicans</i> en sangre y en: Cavidad bucal: 1 Secreción peritoneal: 1 Secreción de catéter: 1 Orina: 1 Secreción de sitio de fractura: 1 <i>C. parapsilosis</i> en sangre y en: Orina: 3 <i>C. glabrata</i> en sangre y en: Punta de catéter: 1 <i>C. tropicalis</i> en sangre y en: Orina: 1 Punta de catéter: 1
Hongos levaduriformes	6	22.22	<i>C. albicans</i> en sangre y en: Orina: 3 Líquido peritoneal: 1 Secreción nasal: 1 Punta de catéter: 1 <i>C. parapsilosis</i> en sangre y en: Secreción: 1 <i>C. glabrata</i> en sangre y en: Orina: 1 Secreción vaginal: 1 <i>C. albicans</i> + <i>C. parapsilosis</i> en sangre y: <i>C. albicans</i> en orina: 1
Bacterias	5	18.52	No aplica
Hongos filamentosos	1	3.70	<i>Fusarium sp.</i> en sangre y en: Punta de catéter
Ninguno reportado	7	25.93	-----
TOTAL	27 (*)	100.00	

(*) Sólo se contemplan 27 casos, ya que no se pudo tener acceso a uno de los expedientes

Gráfico 5.9 Infecciones simultáneas a la fungemia

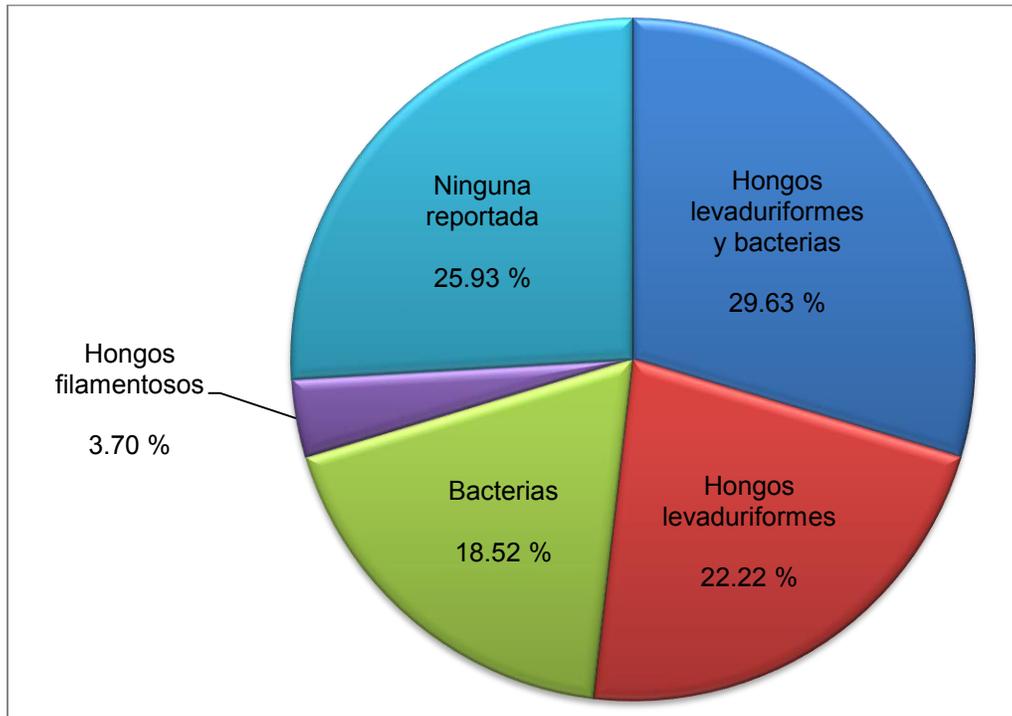


Tabla 5.6 Bacterias aisladas de las sepsis mixtas con hongos levaduriformes

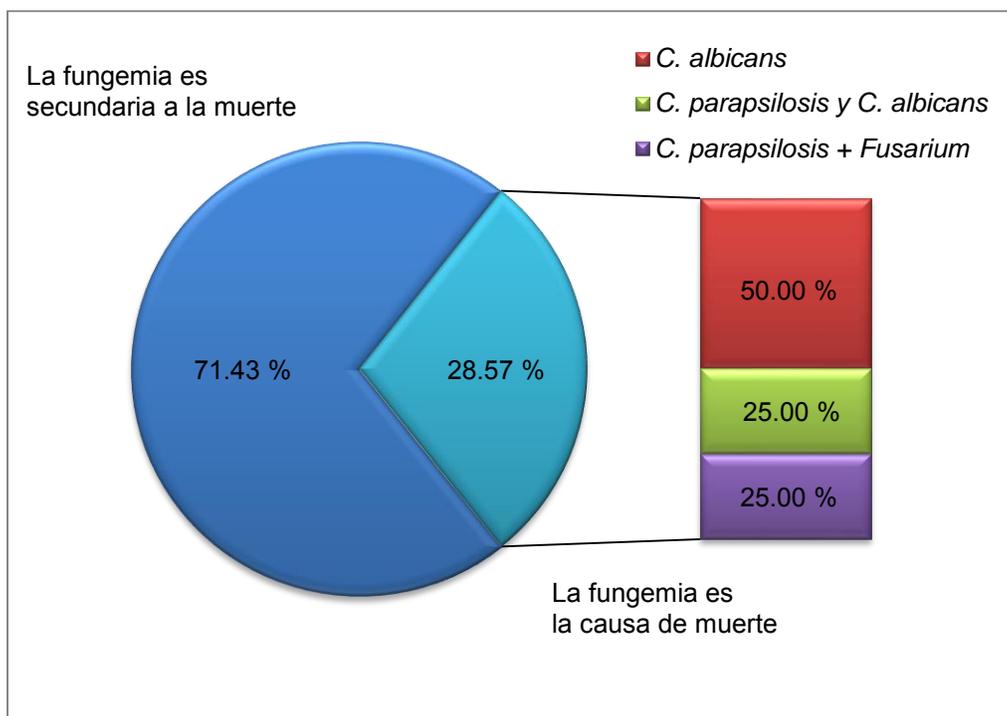
Cocos Gram positivos (G+)	Número de casos	Bacilos Gram negativos (G-)	Número de casos
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2
<i>Staphylococcus aureus</i>	2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	<i>Burkholderia cepacia</i>	1
<i>Staphylococcus hominis</i>	1		
<i>Staphylococcus capitis</i>	1		
<i>Enterococcus faecium</i>	1		

De los 28 pacientes con fungemia se presentaron 14 defunciones, 4 de ellas se dieron como consecuencia directa de la sepsis por *Candida* o por una sepsis mixta (*Candida* + bacterias) y en las 10 restantes la sepsis por *Candida* fue una causa secundaria.

Tabla 5.7 Mortalidad

Relación de la fungemia con la muerte	Número de casos	Porcentaje de casos %	Cepa aislada
La sepsis por <i>Candida</i> es la causa de muerte	4	28.57	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>C. albicans</i>: 2 ▪ <i>C. parapsilosis</i> y <i>C. albicans</i>: 1 ▪ <i>C. parapsilosis</i> + <i>Fusarium</i>: 1
La sepsis por <i>Candida</i> es una causa secundaria	10	71.43	<ul style="list-style-type: none"> ▪ <i>C. albicans</i>: 4 ▪ <i>C. parapsilosis</i>: 3 ▪ <i>C. glabrata</i>: 1 ▪ <i>C. tropicalis</i>: 1 ▪ Hongo levaduriforme con desarrollo insuficiente: 1

Gráfico 5.10 Mortalidad



FACTORES RELACIONADOS CON LOS HEMOCULTIVOS, QUE INCIDEN EN LA DETECCIÓN OPORTUNA DE FUNGEMIA

▪ Tiempos de positividad

Tabla 5.8 Tiempos en los que fue detectado el crecimiento de hongos levaduriformes en hemocultivos

Días de positividad	Número de hemocultivos	Porcentaje de hemocultivos (%)	Porcentaje acumulado (%)	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. glabrata</i>	NHD
1	13	40.62	40.62	4	8	1	0
2	9	28.12	68.74	3	6	0	0
3	4	12.50	81.24	3	0	0	1
4	0	0.00	81.24	0	0	0	0
5	2	6.25	87.49	2	0	0	0
6	3	9.38	96.87	1	2	0	0
7	1	3.12	100.00	0	1	0	0
TOTAL	32	100.00		13	17	1	1

Gráfico 5.11 Tiempos en los que fue detectado el crecimiento de hongos levaduriformes en hemocultivos

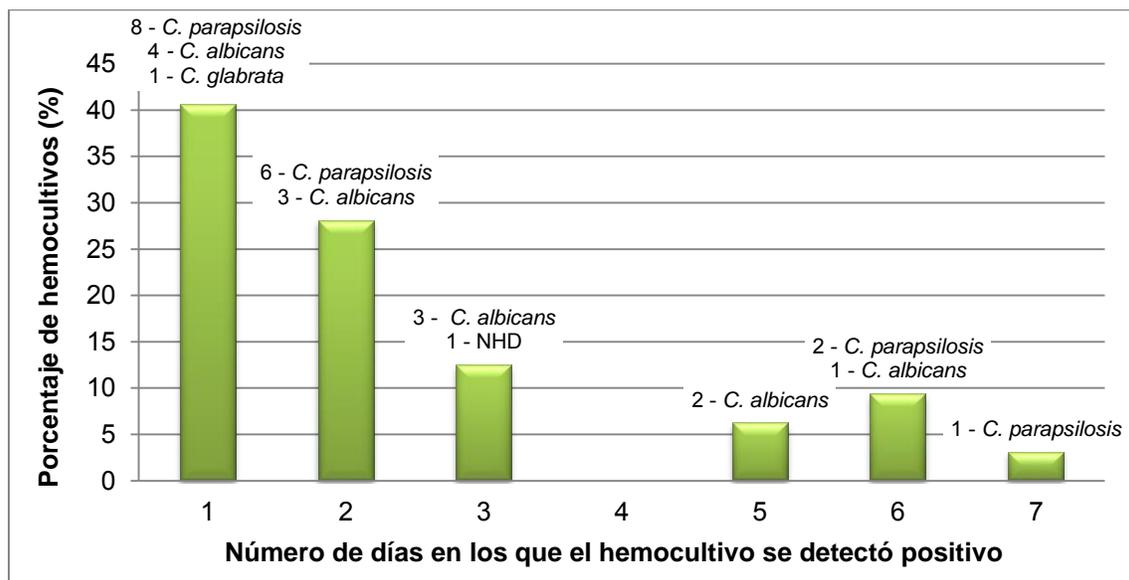


Tabla 5.9 Tiempos en los que fue detectado el crecimiento de hongos filamentosos en hemocultivos

Días de positividad	Número de hemocultivos	Porcentaje de hemocultivos (%)	Porcentaje acumulado (%)	<i>Fusarium</i> sp.
3	3	42.86	42.86	3
4	2	28.57	71.43	2
5	0	0.00	71.43	0
6	2	28.57	100.00	2
TOTAL	7	100.00		7

Gráfico 5.12 Tiempos en los que fue detectado el crecimiento de hongos filamentosos en hemocultivos

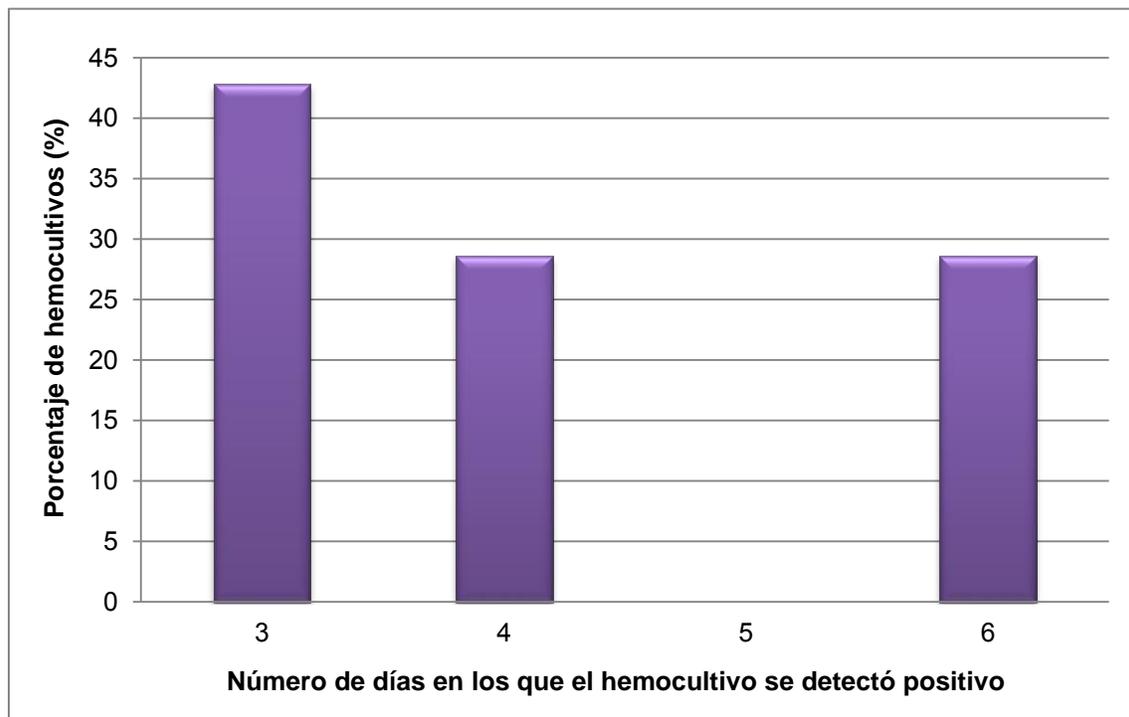


Tabla 5.10 Tiempos en los que fue detectado el crecimiento en hemocultivos mixtos (hongos levaduriformes + bacterias)

Días de positividad	Número de hemocultivos	Porcentaje de hemocultivos (%)	Porcentaje acumulado (%)	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. tropicalis</i>
1	4	21.05	21.05	2	0	1	1
2	4	21.05	42.10	1	0	3	0
3	6	31.58	73.68	2	1	2	1
4	3	15.79	89.47	0	3	0	0
5	1	5.26	94.73	1	0	0	0
6	1	5.26	100.00	1	0	0	0
TOTAL	19	100.00		7	4	6	2

Gráfico 5.13 Tiempos en los que fue detectado el crecimiento en hemocultivos mixtos (hongos levaduriformes + bacterias)

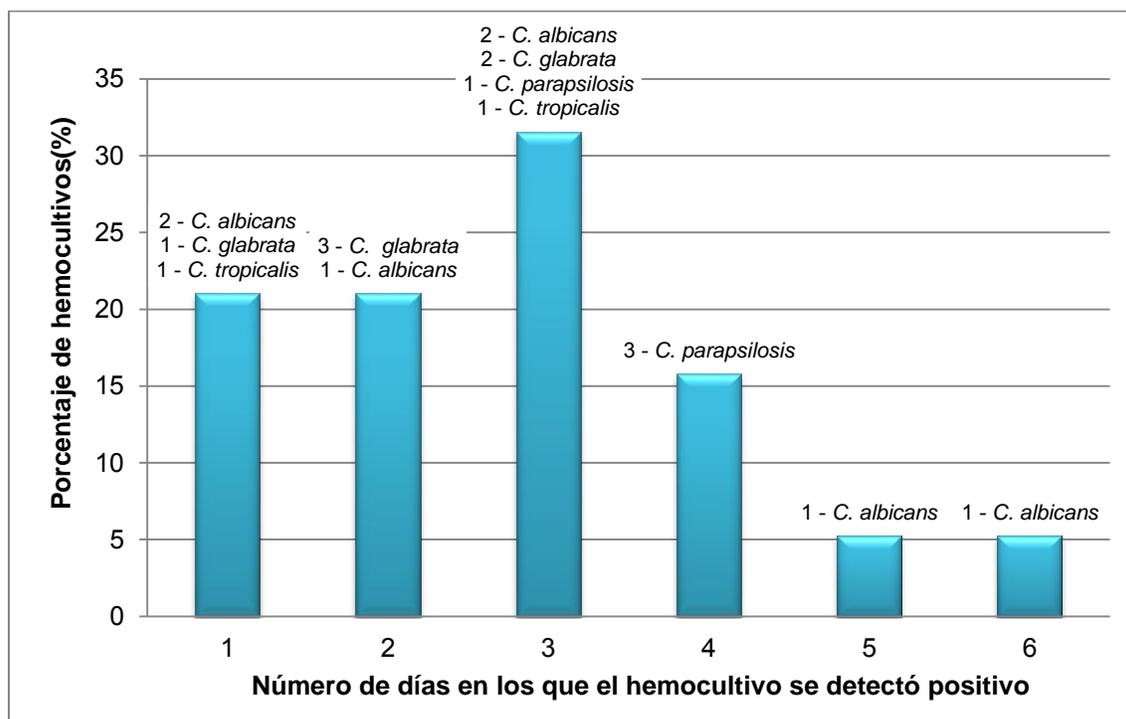


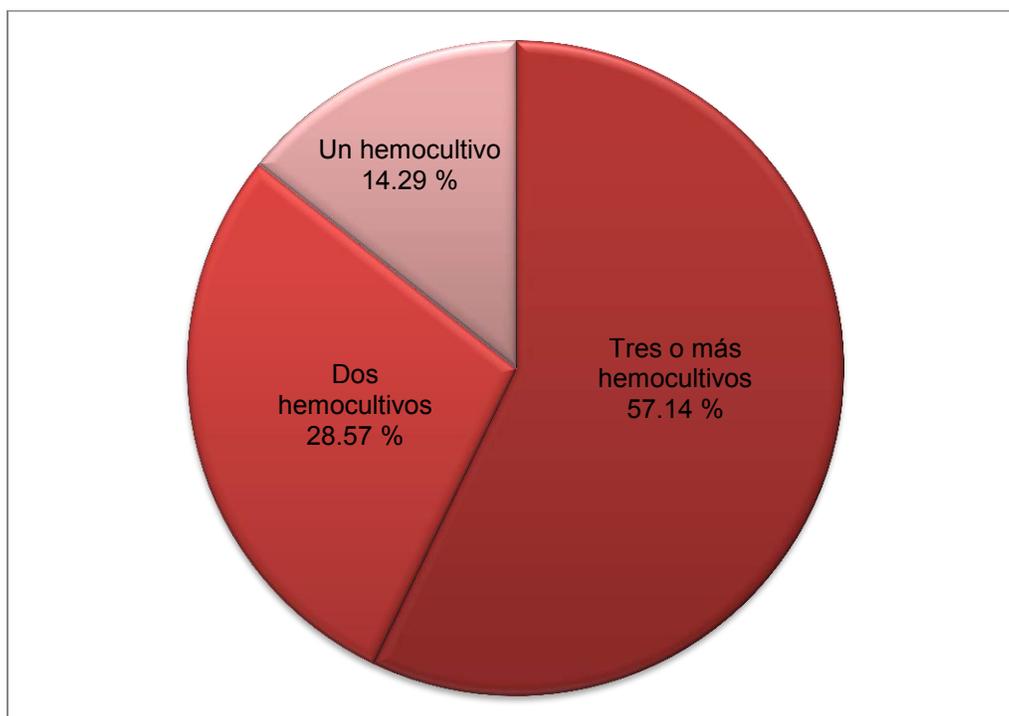
Tabla 5.11 Tiempos en los que fue detectado el crecimiento en hemocultivos mixtos (hongos levaduriformes + hongos filamentosos)

Días de positividad	Número de hemocultivos	Porcentaje de hemocultivos (%)	<i>C. parapsilosis</i> + <i>Fusarium sp.</i>
5	1	100.00	1
TOTAL	1	100.00	1

- Número de hemocultivos

La tendencia de hemocultivos entregados por cada uno de los pacientes con hemocultivos positivos fue la siguiente:

Gráfico 5.14 Tendencia de hemocultivos entregados por paciente (casos positivos)

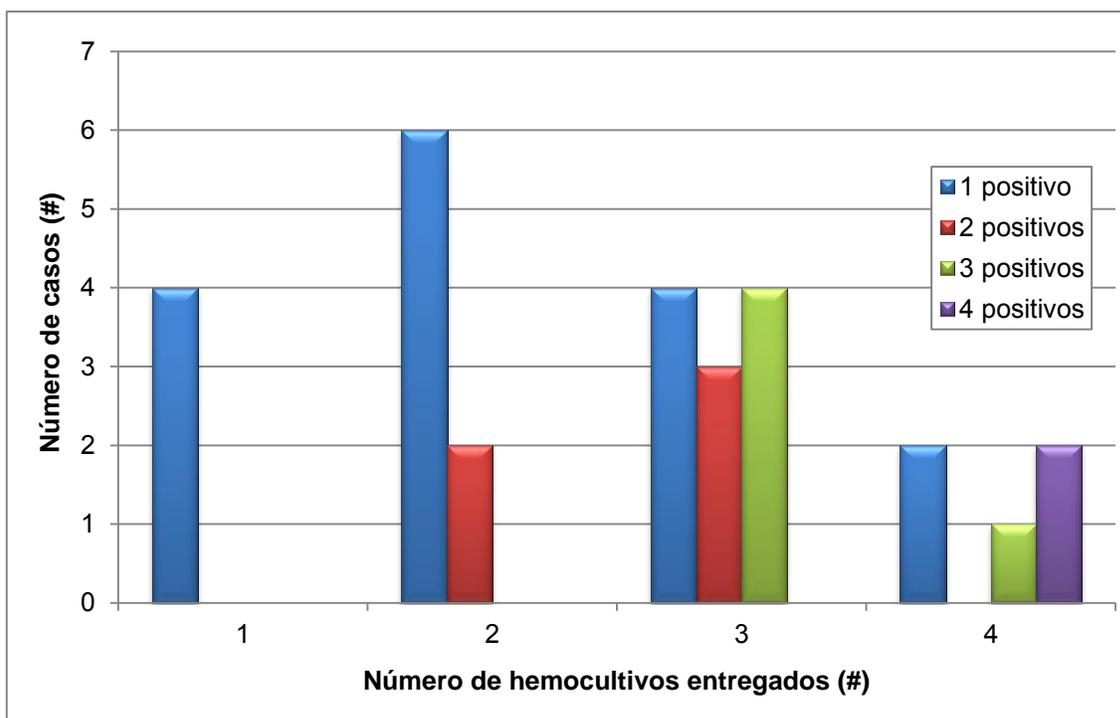


La relación entre el número de hemocultivos entregados y los hemocultivos positivos se resume a continuación:

Tabla 5.12 Relación de hemocultivos entregados y muestras positivas

# de series con: # de series entregadas con:	Un positivo (+)	Dos positivos (++)	Tres positivos (+++)	Cuatro o más positivos
Un hemocultivo: 4	4	--	--	--
Dos hemocultivos: 8	6	2	--	--
Tres hemocultivos: 11	4	3	4	--
Cuatro o más hemocultivos: 5	2	0	1	2

Gráfico 5.15 Relación de hemocultivos entregados y muestras positivas

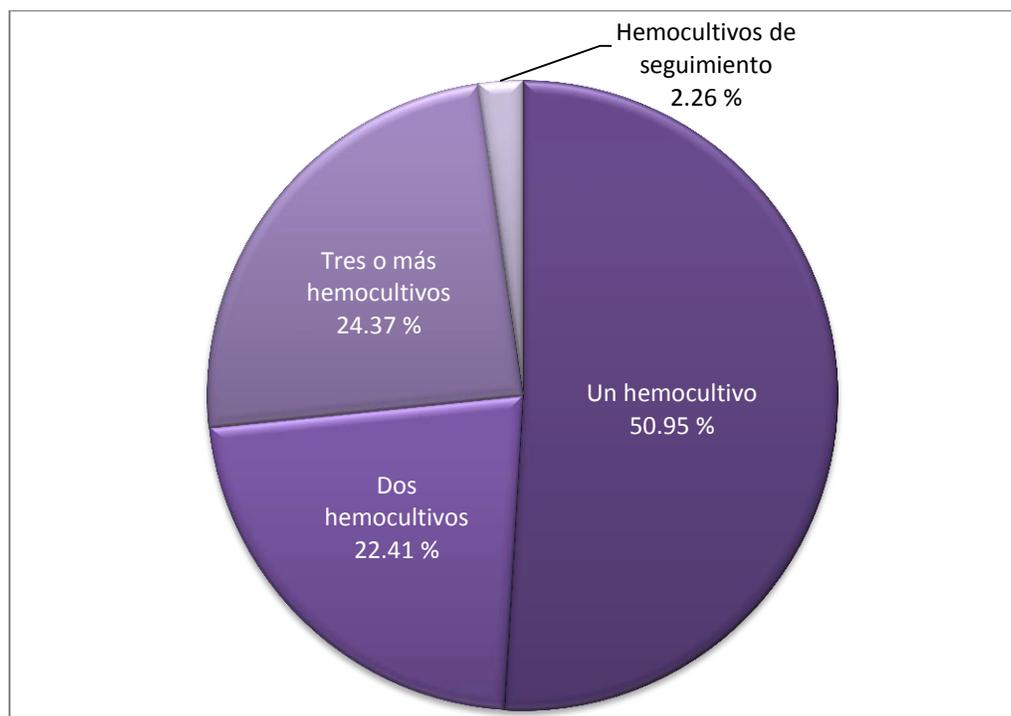


Por otro lado, la tendencia de hemocultivos entregados por los pacientes con sospecha de fungemia, pero que no presentaron hemocultivos positivos, fue la siguiente:

Tabla 5.13 Tendencia de hemocultivos entregados para la detección de fungemia (casos negativos)

Número de hemocultivos	Estado	Número de entradas	Porcentaje de entradas (%)
1	Entregado en un período de 7 a 8 días	855	50.95
2	Entregados en un período de 7 a 8 días	376	22.41
3 o más	Entregados en un período de 7 a 8 días	409	24.37
1-3	De control o seguimiento. Entregado(s) dentro de los 7 días siguientes a la entrega de dos o tres hemocultivos en serie	38	2.26
TOTAL		1678	100.00

Gráfico 5.16 Tendencia de hemocultivos entregados para la detección de fungemia (casos negativos)



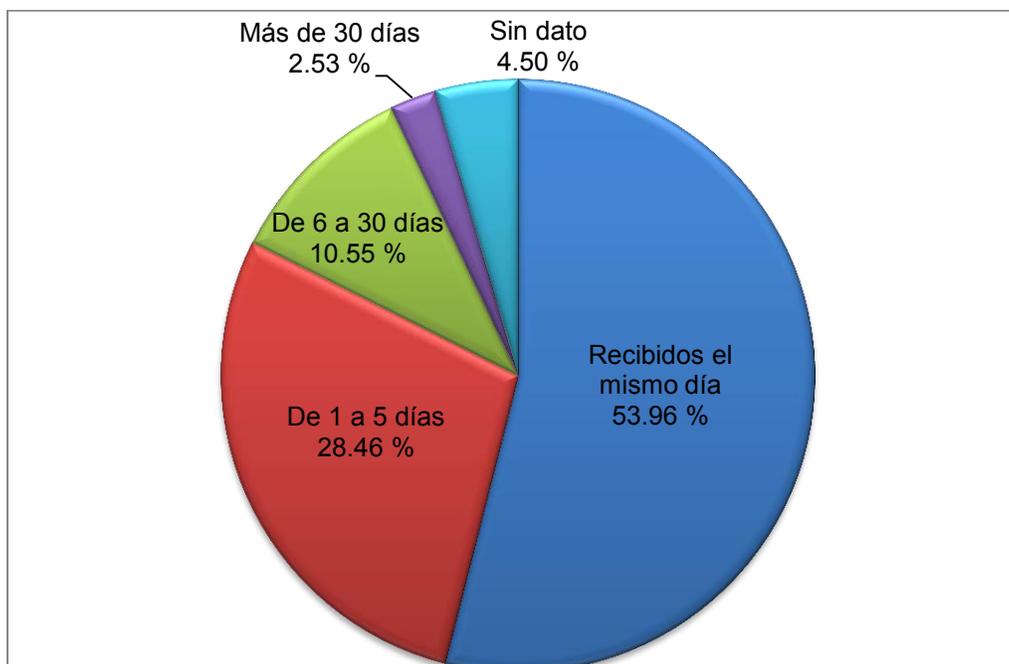
Tiempos de recepción

Los resultados referentes al tiempo que transcurre desde que el médico solicita el medio de cultivo hasta que lo regresa inoculado se obtuvieron con datos del 10 de mayo del 2010 al 31 de Diciembre del 2012, periodo en el que se procesaron 2133 hemocultivos.

Tabla 5.14 Tiempos de recepción de los hemocultivos

Intervalos de tiempo	Promedio	Número de hemocultivos	Porcentaje de hemocultivos (%)
Recibidos el mismo día		1151	53.96
De 1 a 5 días	2 días	607	28.46
De 6 a 30 días	13 días	225	10.55
Más de 30 días	67 días	54	2.53
Sin dato		96	4.50
TOTAL		2133	100.00

Gráfico 5.17 Tiempos de recepción de los hemocultivos



6. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos del estudio comparativo demuestran que con el método automatizado el porcentaje de positividad es mucho mayor (1.45 puntos porcentuales, Gráfico 5.1) al obtenido por el método manual utilizado anteriormente en el laboratorio, lo cual ya de inicio justifica el cambio de metodología en la detección de fungemia. Otro hallazgo importante fue que con el método automatizado se detectaron cultivos mixtos de hongos levaduriformes con bacterias (32.20%) y de hongos levaduriformes con hongos filamentosos (1.69%), que no se observaron en el reporte del método manual (Gráfico 5.2), este hallazgo impacta directamente en el tratamiento y seguimiento del paciente, de ahí su importancia.

Por otro lado, con el método manual sólo se encontraron dos especies de *Candida*, *C. albicans* y *C. parapsilosis*, mientras que con el método automatizado se obtuvieron además *C. tropicalis* y *C. glabrata*, hubo también un caso en el que en el examen directo se observaron blastoconidios, sin embargo, en el subcultivo no hubo desarrollo suficiente para llevar a cabo la tipificación (Gráfico 5.3).

En cuanto a la detección de hongos filamentosos, el único hongo recuperado con el método automatizado fue *Fusarium* sp. (aislado de tres pacientes), mientras que por el método manual se obtuvo sólo un aislamiento, correspondiente a *Histoplasma capsulatum* (Gráfico 5.4). La literatura reporta que las infecciones invasivas causadas por hongos filamentosos son producidas principalmente por *Aspergillus* sp. y *Fusarium* sp., teniendo *Fusarium* sp. un porcentaje de recuperación en hemocultivos del 50 al 70% y de *Aspergillus* sp. menor al 6%.

Las ventajas del sistema automatizado sobre la técnica manual, expuestas mediante los hallazgos anteriores, están determinadas por diversos factores, entre ellos destacan la composición del medio de cultivo y la uniformidad en las condiciones de incubación de los hemocultivos. El crecimiento y detección de los microorganismos se ve favorecida por tres condiciones principales: 1) la presencia de un agente lítico en el medio de cultivo permite la liberación de microorganismos fagocitados por los leucocitos, aumentando así la concentración de éstos en el medio 2) la adición de un mayor número de suplementos nutritivos y 3) la agitación constante de los hemocultivos permite una uniformidad en la disposición de los nutrientes y una mayor oxigenación.

Los 59 hemocultivos positivos a los que nos hemos referido en el análisis del método automatizado pertenecen a 28 pacientes, de los cuales se obtuvieron los siguientes hallazgos:

Se encontró un porcentaje mayor de aislamientos en pacientes masculinos (57.14%) que en pacientes femeninos (42.86%) (Tabla 5.3), diferencia que no se considera significativa, por lo que respecta al género, la literatura no menciona éste como un factor predisponente o de riesgo para la adquisición de fungemia.

En cuanto al número de aislamientos respecto a la edad (Tabla 5.3), se observa que la incidencia de fungemia es mayor en los lactantes (1 mes a 2 años), seguidos de los preescolares (3 a 5 años), adolescentes (12 a 18 años) y escolares (6 a 11 años), en ese orden. Aunque los procedimientos médicos y tratamientos juegan el papel más importante en la adquisición de fungemia, esta tendencia puede relacionarse con la madurez del sistema inmune, pues los pacientes de mayor edad son los menos afectados. La principal especie aislada de los lactantes fue **C.**

parapsilosis, que al ser un colonizador transitorio de piel y uñas se convierte en uno de los principales focos de infección, pues dichos pacientes tienen mayor contacto con las manos tanto de sus familiares como de los profesionales de la salud, de las que frecuentemente se aísla esta especie. Referente a *Fusarium* sp., se tuvo un aislamiento en un lactante, uno en un preescolar y uno en un adolescente, en estos casos la edad no es un factor determinante, sino más bien, el estado del sistema inmune del paciente, en el que una celularidad neutropénica constante representa el principal factor de riesgo para la adquisición de una fungemia por hongos filamentosos.

En los estudios reportados por Santolaya y colaboradores entre 2008 y 2010, se observó que después de *C. albicans*, las especies causantes de fungemia en pacientes pediátricos de AL, eran *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* en segundo y tercer lugar respectivamente, y especies como *C. krusei* y *C. glabrata* se encontraron con porcentajes menores al 5%, esto difiere de lo encontrado en nuestro estudio (Tabla 5.3), en donde de los hongos levaduriformes tipificados, *C. parapsilosis* ocupó el segundo lugar después de *C. albicans*, con un 42.31% y un 46.15% respectivamente, siguiéndole *C. glabrata* con un 7.69% y *C. tropicalis* con un 3.85%. *C. parapsilosis* tiene gran afinidad para colonizar dispositivos intravasculares, lo que explica su alta incidencia, pues en nuestro estudio el principal factor de riesgo son los dispositivos médicos invasivos, entre los que destacan los catéteres. Aunque se ha observado una tendencia particular en AL en cuanto a la frecuencia de las especies aisladas, esta puede variar de acuerdo a la región en estudio, por ejemplo, en el año 2012, Treviño y colaboradores reportaron a *C. parapsilosis* como el principal agente causante de fungemia en pacientes de Monterrey N. L., conservando esta tendencia desde el año 2008.

El servicio hospitalario en el que se tuvo el mayor número de pacientes con hemocultivos positivos fue la UTIP, seguida de Infectología, Inmunología, Oncología y Neonatología (Gráfico 5.7), esto se asocia principalmente con los factores de riesgo relacionados con el desarrollo de fungemia (Gráfico 5.8), entre los cuales el uso de dispositivos invasivos (catéteres, sondas e intubaciones) ocupan el primer lugar. En la UTIP se encuentran los pacientes en estado crítico, en los cuales su padecimiento de base o el motivo de su estancia y los múltiples procedimientos médicos a los que están sometidos (entre ellos, el uso de dispositivos invasivos, tales como catéteres para la administración de fármacos, alimentación o monitoreo del estado hemodinámico, o sondas para respiración o diálisis) representan un factor de riesgo importante. En el servicio de Infectología los pacientes pueden estar cursando con una infección micótica además de su padecimiento de base que puede ser variado, o bien, pueden desarrollar una fungemia asociada al uso indiscriminado de antibióticos de amplio espectro para el tratamiento de infecciones bacterianas (segundo factor de riesgo identificado), los cuales suprimen la microbiota normal del tracto gastrointestinal, dando lugar a una colonización por *Candida*, principalmente. El tercer factor de riesgo identificado corresponde al uso de esteroides e inmunosupresores, los cuales son utilizados en los servicios de Inmunología y Oncología como parte de los tratamientos, por último, el servicio de Neonatología se relaciona con la prematurez y el bajo peso al nacimiento, que ocupan el cuarto lugar entre los factores de riesgo, pues dichos pacientes tienen aún un sistema inmune inmaduro.

Por otro lado, en la mayoría de los servicios, a excepción de Hematología, Cirugía y Cardiología, se tuvieron aislamientos de *C. albicans*, y en la mayoría, excepto en Urgencias y Hematología, se aisló

C. parapsilosis; *C. glabrata* se aisló en la UTIP, Infectología y Urgencias, y *C. tropicalis* en un paciente de Neonatología (Gráfico 5.7). La alta incidencia de *C. albicans* radica en que al formar parte de la microbiota normal del ser humano se convierte en el patógeno oportunista más importante, pues ante la alteración o deterioro de las barreras biológicas de defensa puede fácilmente colonizar; en el caso de *C. parapsilosis*, al ser un colonizador transitorio de piel y uñas y tener gran afinidad por dispositivos intravasculares y soluciones de nutrición parenteral, frecuentemente utilizados en hospitalización, también se convierte en un patógeno de alta incidencia. *C. glabrata* es un patógeno emergente debido al incremento en el uso de terapias inmunosupresivas, el uso de antibióticos de amplio espectro y el uso profiláctico de fluconazol, éstos dos últimos importantes en el servicio de Infectología, de donde se tuvo un aislamiento; por último, *C. tropicalis* se asocia principalmente a pacientes neoplásicos altamente inmunosuprimidos, sin embargo, en este caso sólo se presentó en un paciente de Neonatología.

Respecto a *Fusarium* sp. los aislamientos corresponden a tres pacientes, uno de la UTIP y dos del servicio de Oncología (que también fueron pacientes de Hematología y Cirugía), en estos casos la relación que existe entre los factores de riesgo es clara, el paciente perteneciente a la UTIP presentó múltiples cirugías, haciéndolo más susceptible a una infección por hongos saprófitos, anemófilos, contaminantes y oportunistas, y posteriormente a diseminación; por otro lado los pacientes de Oncología, quienes por su padecimiento de base y su tratamiento presentan neutropenia, condición principal para una infección por hongos filamentosos.

De forma general, el 55% de los pacientes presentó una infección simultánea por el mismo hongo aislado en sangre y detectada por su

aislamiento de otros sitios o materiales biológicos, tales como cavidad bucal, orina, líquido peritoneal, puntas de catéter y secreciones (peritoneal, nasal, vaginal, de sitio de fractura, del sitio de inserción de catéter) (Tabla 5.5). Para definir si éstas y el resto de las fungemias tuvieron su origen en el sitio alternativo de donde se aisló el mismo agente (origen endógeno) o su origen fue exógeno, sería necesario hacer una revisión más exhaustiva de cada uno de los casos para establecer el orden de los procedimientos y tratamientos y su posible relación con el desarrollo de fungemia, y detectar el momento en el que se hicieron presentes los síntomas de la infección, sin embargo, resultan de gran importancia los procedimientos quirúrgicos, terapéuticos y las medidas de higiene, pues el abuso o descuido de éstos hacen que una infección localizada alcance fácilmente el torrente sanguíneo. Se sabe que la mayoría de las candidemias son de origen endógeno, en el caso de *C. albicans*, al formar parte de la microbiota normal del ser humano se convierte en el patógeno oportunista más importante. Aunque *C. parapsilosis* también forma parte de la microbiota natural del ser humano, su afinidad por los dispositivos intravasculares y soluciones de nutrición parenteral y el aislamiento frecuente de las manos de los profesionales de la salud, hacen que su principal mecanismo de colonización sea el exógeno.

Respecto a la mortalidad (Gráfico 5.10), de los 28 pacientes con hemocultivos positivos se presentaron 14 defunciones, cuatro de ellas a causa de la fungemia, es decir, se presentó una mortalidad directa del 14.28%, dichos pacientes presentaron infecciones simultáneas en otros órganos o sistemas por el mismo hongo aislado de sangre; en las diez defunciones restantes la fungemia fue secundaria a la muerte.

El porcentaje de mortalidad encontrado en este estudio concuerda con el reportado en la literatura (del 13 al 23% en niños), al hablar de mortalidad resulta de gran valor la correlación entre el diagnóstico y los factores de riesgo asociados a fungemia, y la toma inmediata de los hemocultivos ante la sospecha de ésta, pues como veremos más adelante, gran parte de los hemocultivos se detectan positivos en las primeras 24 horas, dando la posibilidad de dar un tratamiento inmediato y oportuno.

Por lo anterior, se buscaron en los datos de laboratorio algunos de los factores que pueden incidir en la detección oportuna de fungemia, a los que se tuvo acceso únicamente, no por ello siendo los únicos o los más importantes, son el tiempo de detección del hongo en el medio de cultivo, el número de hemocultivos por paciente y el tiempo que transcurre desde que el médico solicita el medio de cultivo hasta que lo regresa inoculado.

Respecto al tiempo de positividad, el tiempo en el cual se detectó el crecimiento de hongos levaduriformes fue dentro de los siete días posteriores a la incubación del medio inoculado (Gráfico 5.11), encontrando que la mayoría (40%) crece en el primer día, habiendo cepas de *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. glabrata* detectadas en estas primeras 24 horas, la mayoría de los hemocultivos positivos para *C. parapsilosis* fue detectado en las primeras 24 horas y por otro lado, *C. albicans* fue la especie que tuvo mayor variabilidad en el tiempo de detección, desde uno hasta seis días. Dada la alta incidencia de detección en las primeras 24 horas, resulta de gran importancia la pronta toma y envío de hemocultivos ante la sospecha de candidemia, para que su detección y tratamiento sean oportunos; en el caso de *Fusarium* sp. su detección fue de tres a seis días posteriores a la

incubación del medio inoculado (Gráfico 5.12), tiempo idóneo aún, para la toma de decisiones clínicas. Aunque en ambos casos las primeras manifestaciones clínicas son inespecíficas, los factores de riesgo, la falta de respuesta al tratamiento con antibióticos de amplio espectro y los hemocultivos bacterianos negativos, pueden alertar al médico sobre la presencia de fungemia, la corioretinitis y las lesiones en la piel pueden ser un indicativo, sin embargo, estas suelen presentarse semanas después. Resulta difícil establecer una relación entre el tiempo de positividad de los hemocultivos y las especies aisladas, pues en este intervienen factores tales como el volumen de muestra, la concentración del microorganismo en la sangre y su disposición (intracelular o extracelular).

En el caso de los cultivos mixtos de hongos levaduriformes + bacterias, el 73.68% se detectaron positivos dentro de los tres primeros días de incubación, encontrándose en el tercer día el mayor porcentaje (31.58%) y siendo hasta seis días el tiempo máximo de detección (Gráfico 5.13). Para el cultivo mixto del hongo levaduriforme + el hongo filamentoso, el crecimiento se detectó al quinto día. Los hemocultivos mixtos mostraron una diferencia importante respecto a los cultivos simples, por lo que se puede inferir que la presencia de bacterias interfiere sobre el tiempo de positividad, aunque se esperaría que la presencia de bacterias reduciría el tiempo de positividad debido a que su crecimiento suele ser más rápido, la competencia por la obtención de los nutrientes provoca un retraso en el desarrollo de ambos.

En el gráfico 5.14 se observa la tendencia del número de hemocultivos entregados en un lapso de una semana, por los pacientes con diagnóstico de fungemia. En el gráfico 5.15 se observa que el número de hemocultivos positivos fue muy variable; alrededor del 55% de estos

pacientes tuvieron reportes del mismo hongo aislado de sangre, en otros sitios o líquidos biológicos (infecciones simultáneas) o en hemocultivos procesados en el laboratorio de Bacteriología, ayudando también estos reportes complementarios a fundamentar la presencia de fungemia. Sin embargo, el análisis del número de hemocultivos entregados por los pacientes con sospecha de fungemia, pero que no presentaron hemocultivos positivos (Gráfico 5.16), refleja que el 50.95% de las entradas corresponde a un solo hemocultivo entregado, el 22.41% corresponde a dos hemocultivos entregados y el 24.37% corresponde a tres o más hemocultivos entregados, teniendo como resultado un 73% de los pacientes con un resultado no representativo.

El número de hemocultivos tomados ante la sospecha de fungemia es un factor determinante para su detección, tratamiento y seguimiento oportunos, el resultado de un solo hemocultivo negativo o incluso dos, no aporta la información suficiente ni es determinante para descartar una sepsis por hongos, ya que un resultado falso negativo puede darse por un volumen insuficiente de la muestra, porque el tiempo transcurrido desde el inicio de la infección es relativamente corto o porque las condiciones de almacenamiento de los medios o de conservación de las muestras han sido inadecuados. De aquí la importancia del envío de tres hemocultivos o más para descartar una fungemia.

El tercer factor analizado fue el tiempo que transcurre desde que el médico solicita el medio de cultivo hasta que lo regresa inoculado (Gráfico 5.17), aquí se encontró que el 82.42% de los médicos regresaron el medio inoculado el mismo día o dentro de los cinco días posteriores a la solicitud del medio, sin embargo, el 13.08% tardaron de seis hasta 30 días o más en ser regresados, esta cifra resulta

importante, ya que los medios de cultivo cuentan con instrucciones de almacenamiento específicas, que la mayoría de las veces son desconocidas por el personal médico o que en el área hospitalaria son difíciles de cumplir. Dichas condiciones son la conservación entre 2 y 25°C en lugares secos y resguardados de la luz, por lo que los medios sometidos por largo tiempo a la luz directa o con variaciones de temperatura constantes pueden tener un deterioro en su composición, acortando su viabilidad y por ende, influyendo sobre el óptimo desarrollo de los microorganismos.

Otros factores que influyen en la calidad de los resultados son el volumen de muestra inoculado al medio y el tiempo que transcurre desde la recolección de la muestra hasta su proceso, sin embargo, no se pudo realizar un análisis de dichos factores ya que los datos en las bitácoras no eran uniformes. A continuación se presentan las condiciones que deben tomarse en cuenta para estos dos puntos. En cuanto al volumen de muestra, el volumen aceptado para el medio empleado en el laboratorio es de 1 a 5 mL con un volumen óptimo de 3 a 5 mL, un volumen fuera de estos límites puede originar resultados falsos positivos o falsos negativos, un volumen inferior da lugar a una concentración no detectable de microorganismos en el medio, y un volumen superior puede afectar la concentración del agente lítico, no haciendo detectable la presencia de microorganismos intracelulares. Aunque el volumen óptimo es de 3 a 5 mL, se aceptan volúmenes de 1 a 2 mL en pacientes recién nacidos, prematuros o aquellos en los que su padecimiento o condición contraindiquen la extracción de volúmenes mayores.

En cuanto al tiempo que transcurre desde la recolección de la muestra hasta su proceso, su importancia radica en que la viabilidad de los

microorganismos se ve afectada por temperaturas extremas, por el sobrecrecimiento bacteriano y por la presencia de ciertos componentes de la sangre, tales como leucocitos, lisozimas y anticuerpos.

7. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos nos proporcionan un amplio panorama de las fungemias en la población pediátrica en estudio, así como los factores de riesgo asociados a las mismas, por otro lado nos permitieron identificar las variables relacionadas con el hemocultivo, que intervienen en la calidad de las muestras y en la detección de fungemia, y que resultan fundamentales para su diagnóstico oportuno.

El uso del sistema automatizado comparado con la técnica manual empleada anteriormente, mostró una importante ventaja, permitiendo la recuperación de un mayor número de especies así como de cultivos mixtos.

De las fungemias causadas por hongos levaduriformes, se encontró que la mayoría de los pacientes estuvieron afectados por *C. albicans*, ocupando por ello el primer lugar, seguida muy de cerca por *C. parapsilosis*, que aunque ocupa el segundo lugar es la más frecuente en los aislamientos provenientes de los lactantes. Aunque *C. glabrata* y *C. tropicalis* tuvieron una incidencia mucho menor, la primera resulta de gran importancia ya que se consideran una especie emergente debido al incremento en el uso de antibióticos de amplio espectro y al uso profiláctico de fluconazol, y la segunda por la alta incidencia en pacientes neoplásicos, sobre todo de tipo hemático, que son frecuentes en la edad pediátrica. En cuanto a los hongos miceliales, *Fusarium* sp. tuvo una incidencia del 100%, la cual no está relacionada con la edad sino con los factores de riesgo.

Respecto a la edad y al género los lactantes fueron el grupo más afectado, seguido de los preescolares, adolescentes y escolares,

habiendo una incidencia mayor en el género masculino, sin embargo, la diferencia respecto al género femenino no se consideró significativa. El género no se considera un factor predisponente para la adquisición de fungemia, mientras que la edad se relaciona con la madurez del sistema inmune.

La UTIP fue el servicio hospitalario con una incidencia mayor de fungemia, seguida de Infectología, Inmunología, Oncología y Neonatología, dicha incidencia está relacionada principalmente con los factores de riesgo a los que están expuestos los pacientes de cada servicio, de los cuales, los dispositivos invasivos ocuparon el primer lugar, seguidos de manera importante por el uso de antibióticos de amplio espectro.

Poco más del 50% de los pacientes presentó una infección en otro órgano y/o sistema, por el mismo hongo aislado del torrente sanguíneo, por lo que resulta importante el control de los procedimientos quirúrgicos, terapéuticos y de higiene.

La mortalidad causada por la presencia de fungemia fue del 14.28%, habiendo en todos los casos una infección simultánea por el mismo hongo aislado de sangre, por lo que resulta de gran importancia la detección oportuna tanto de la fungemia como de las infecciones simultáneas, así como del foco de infección, para abordar al paciente de forma eficaz.

Por otro lado, entre las variables que inciden en la calidad de las muestras, destacan el tiempo que transcurre desde que el médico solicita el medio de cultivo hasta que lo regresa inoculado, el tiempo que transcurre desde la toma de muestra hasta la entrega para su proceso,

las condiciones de almacenamiento de los medios en el área de hospitalización, el número de hemocultivos entregados por paciente y el volumen de muestra.

La información obtenida de este estudio ha permitido caracterizar la incidencia de fungemia en los pacientes del INP, proporcionando además información útil para su correcta detección, y en la implementación de pautas para reducir en la medida de lo posible la probabilidad de adquirir una infección por hongos y desarrollar una fungemia, por ejemplo, el control en el uso de antibióticos de amplio espectro y tratamientos profilácticos, el apego estricto a las guías y protocolos para el manejo y control de dispositivos intravasculares y otro dispositivos invasivos y el cumplimiento de las medidas de higiene y bioseguridad.

8. PROPUESTAS DE MEJORA

Es necesario promover la importancia del hemocultivo como método de elección para el diagnóstico de fungemia, ya que el aislamiento y recuperación del agente fúngico será siempre la evidencia más importante, permitiendo llevar a cabo su tipificación y las pruebas de sensibilidad a los diferentes antimicóticos.

Identificadas las deficiencias y errores en la fase preanalítica del proceso del hemocultivo, resulta necesario dar a conocer al personal médico la metodología correcta para la recolección de la muestra, resaltando las características con las que deben cumplir éstas, así como los factores que inciden en su calidad y que resultan fundamentales para un adecuado y oportuno diagnóstico de fungemia, entre las que destaca la importancia del estudio seriado de tres muestras por paciente y las condiciones de almacenamiento o resguardo.

Promover la importancia de la información proporcionada por el médico, que además de los datos personales del paciente, debe incluir el diagnóstico de base y el diagnóstico presuntivo, si el paciente recibió o está recibiendo algún tratamiento antifúngico y el sitio de donde se tomó la muestra (vena, arteria o catéter), pues estos datos permitirán ampliar la información que se tiene de las fungemias.

Por último, la sensibilidad antifúngica representa el factor más importante en el tratamiento y seguimiento de los pacientes con fungemia, por lo que se propone la realización y el estudio de ésta en los aislamientos provenientes de hemocultivo.

9. REFERENCIAS

1. Álvarez F, Fernández-Ruiz M y Aguado JM: Hierro e infección fúngica invasiva. Rev Iberoam Micol. 2013; 30 (4): 217 – 225
2. Álvez F, Figueras C, Roselló E, **et al**: Infecciones fúngicas invasivas emergentes. An Pediatr (Barc). 2010; 73(1): 52.e1–52.e6
3. Andriolo A, Rodrigues Martins A, Franco Ballarati CA, Barbosa IV, Mendes ME, Rezende Melo M, **et al**: Recomendaciones de la Sociedad Brasileña de Patología Clínica: medicina laboratorial para la extracción de sangre venosa. 2ª ed. Barueri: Manole Ltda; 2010: p 58-72
4. Ausina Ruiz V y Moreno Guillén S: Tratado SEIMC de enfermedades infecciosas y microbiología clínica. Madrid: Médica Panamericana; 2006, p. 601
5. Ayats J, Martín-Mazuelos E, Pemán J, Quindós G, Fernando Sánchez F, García-Rodríguez J, **et al**: Recomendaciones sobre el diagnóstico de la enfermedad fúngica invasora de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Actualización 2010. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011; 29(1): 39.e1–39.e15
6. Bonifaz A: Micología medica básica. 3ª ed. México: McGraw-Hill; 2012; p. 280 – 300, 333-347
7. Borges Sá M: Actualización sobre el tratamiento de las infecciones fúngicas graves. Rev Esp Quimioter. 2008; 21 (1): 14-25

8. Castillo Lango FG: Diagnóstico de candidemia por el laboratorio en pacientes pediátricos en un hospital de tercer nivel [Tesis Químico Farmacéutico Biólogo] México, D.F: Universidad Nacional Autónoma de México, 2011
9. Castrillón Rivera LE, Palma Ramos A, Padilla Desgarenes MC: Biopelículas fúngicas. Dermatol Rev Mex (México). 2013; 57 (5): 350-361
10. Cavling Arendrup M, Sulim S, Holm A, Nielsen L, Dam Nielsen S, Dahl Knudsen J, **et al**: Diagnostic issues, clinical characteristics, and outcomes for patients with fungemia. J Clin Microbiol. 2011; 49 (9): 3300 – 3308
11. Cuenca – Estrella M: Diagnóstico de laboratorio de la enfermedad fúngica invasora. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2012; 30(5): 257–264
12. Cugno C, Cesaro S: Epidemiology, risk factors and therapy of candidemia in pediatric hematological patients. Pediatr Rep. 2012; 4 (e9): 30-33
13. De Bedout C, Gómez BL: **Candida** y candidiasis invasora: un reto continuo para su diagnóstico temprano. Infectio. 2010; 14 (2): S159 - S171
14. De Pauw BE: What are fungal infections? Mediterr J Hematol Infect Dis. 2011; 3 (1)

15. Diagnóstico y tratamiento de sepsis y choque séptico en pacientes 1 mes a 18 años de edad. México: Secretaría de Salud, 2008
16. Diagnóstico y tratamiento de candidiasis invasiva en el adulto. México: Secretaría de Salud, 2012
17. Falagas ME, Roussos N, Vardakas KZ: Relative frequency of *albicans* and the various non-*albicans Candida* spp. among candidemia isolates from inpatients in various parts of the world: a systematic review. Int J Infect Dis. 2010; 14: e954-e966
18. Figueras Nadal C, Díaz de Heredia Rubio C, Navarro Gómez ML, Roselló Mayans E, Álvez González F: Infección fúngica invasiva (IFI): actualización. 3ª edición. Madrid: ERGON; 2011; p. 135 - 147 (Protocolos diagnóstico - terapéuticos de la AEP: Infectología pediátrica)
19. Figueras C, Díaz de Heredia C, García JJ, Navarro M, Ruiz-Contreras J, Rossich R, **et al**: Recomendaciones de la Sociedad Española de Infectología Pediátrica sobre diagnóstico y tratamiento de la candidiasis invasiva. An Pediatr (Barcelona). 2011; 74 (5): 337.e1 - 337.e17
20. Fortún J, Carratalá J, Gavaldá J, Lizasoain M, Salavert M, De la Cámara R, **et al**: Recomendaciones sobre el tratamiento de la enfermedad fúngica invasiva por *Aspergillus* spp. y otros hongos filamentosos de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Actualización 2011. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2011; 29(6): 435-454

21. García-Rodríguez J, De Pablos Gómez M, Gutiérrez Avelino A: El microbiólogo y la infección asociada a catéter. Rev Esp Quimioter. 2010; 23(2): 53-62
22. Garcia-Vidal C, Carratalà J: Patogenia de la infección fúngica invasora. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2012; 30 (3): 151–158
23. González Saldaña N, Castañeda Narváez JL, Saltigeral Simental P, Rodríguez Weber MA, López Candiani C, Rosas Ruiz A, **et, al**: Infecciones nosocomiales en la Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales del Instituto Nacional de Pediatría. Acta Pediatr Mex (México). 2011; 32(1): 28-32
24. Hernández Cruz C, Núñez Quintana A, Rodríguez Fraga Y, Carnot Uria J, Muñío Perurena J, Pérez Román G, **et al**: Sepsis sistémica por ***Fusarium solani*** en pacientes con leucemias agudas. Reporte de dos casos. Rev Hematol (México) (. 2011; 12(4): 287-292
25. Kauffman CA, Pappas PG, Sobel JD, Dismukes WE: Essentials of clinical mycology. 2a ed. Nueva York: Springer; 2011; p. 281 – 289
26. Kirn TJ, Weinstein MP: Update on blood cultures: how to obtain, process, report, and interpret. Clin Microbiol Infect. 2013; 19 (6): 513–520
27. Klingspor L, Muhammed S. A, Özenci V: Comparison of the two blood culture systems, Bactec 9240 and BacT/Alert 3D, in the detection of ***Candida*** spp. and bacteria with polymicrobial sepsis. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012; 31: 2983–2987

28. Linares Sicilia MJ y Solís Cuesta Francisco: Identificación de levaduras. En: Pemán J, Martín-Mazuelos E, Rubio Calvo MC. Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. Segunda edición. Bilbao: Rev Iberoam Micol; 2007; p. 11-1 – 11-20
29. López Moral L, Tiraboschi IN, Schijman M, Bianchi M, Guelfand L, Cataldi S, **et al**: Fungemias en hospitales de la Ciudad de Buenos Aires, Argentina. Rev Iberoam Micol. 2012; 29 (3): 144–149
30. Manikandan P, Galgóczy L, Panneer Selvam K, Shobana S, Kocsubé S, Vágvölgyi C, **et al**: *Fusarium*. En: Liu D. Molecular detection of human fungal pathogens. Londres: CRC Press; 2011; p. 417-433
31. Marcos JY, Pincus DH: Fungal diagnostics: review of commercially available methods. Nueva York: Humana Press; 2013; p. 25 – 53 (Methods in molecular biology; 968)
32. Murray PR, Masur H: Current approaches to the diagnosis of bacterial and fungal bloodstream infections in the intensive care unit. Crit Care Med. 2012; 40 (12): 3277- 3282
33. Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK Jr., Calandra TF, Edwards JE Jr., **et al**: Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2009; 48: 503–535
34. Pemán J, Salavert M: Epidemiología general de la enfermedad fúngica invasora. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2012; 30(2): 90–98

35. Pemán J, Salavert M: Epidemiología y prevención de las infecciones nosocomiales causadas por especies de hongos filamentosos y levaduras. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2013; 31(5): 328–341
36. Pemán J, Cantón E, Linares-Sicilia MJ, Roselló EM, Borrell N, Ruiz-Pérez-de-Pipaon MT, **et al**: Epidemiology and antifungal susceptibility of bloodstream fungal isolates in pediatric patients: a spanish multicenter prospective survey. *J Clin Microbiol*. 2011; 49 (12): 4158–4163
37. Riedel S, Carroll KC: Blood cultures: key elements for best practices and future directions. *J Infect Chemother*. 2010; 16: 301-316
38. Rosa C, Araujo R, Rodrigues AG, Pinto-de-Sousa MI, Pina-Vaz C: Detection of *Aspergillus* species in BACTEC blood cultures. *J Med Microbiol* (2011); 60, 1467–1471
39. Santolaya ME, Alvarado Matute T, De Queiroz Telles F, Lopes Colombo A, Zurita J, Tiraboschi IN, **et al**: Recommendations for the management of candidemia in neonates in Latin America. *Rev Iberoam Micol*. 2013; 30 (3): 158–170
40. Santolaya ME, De Queiroz Telles F, Alvarado Matute T, Lopes Colombo A, Zurita J, Tiraboschi IN, **et al**: Recommendations for the management of candidemia in children in Latin America. *Rev Iberoam Micol*. 2013; 30 (3): 171–178

41. Sardi JCO, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, Mendes Giannini MJS: *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. J Med Microbiol. 2013; 62: 10-24
42. Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J: *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. FEMS Microbiol Rev. 2012; 36: 288–305
43. Treviño-Rangel RJ, González-González JG, Garza-González E, González GM: *Candida parapsilosis*, una amenaza desafiante. Revista Medicina Universitaria (México). 2012; 14 (56): 157 – 165
44. Vázquez D: Antimicóticos. En: Bonifaz A. Micología medica básica. 3ª ed. México: McGraw-Hill; 2012 p. 453- 485
45. Weinstein MP, Doern GV: A critical appraisal of the role of the clinical microbiology laboratory in the diagnosis of bloodstream infections. J Clin Microbiol. 2011; 49 (Supl 9): S26 – S29
46. Zaragoza R y Pemán J: Opciones terapéuticas para el tratamiento antifúngico en el paciente crítico. Rev Iberoam Micol. 2012; 29 (2): 108-113

❑ **Materiales complementarios:**

47. Inserto: API® ID32C Sistema de identificación de levaduras

48. Inserto: BD CHROMagar™ *Candida* medium: Instrucciones de uso
– medios en placa listos para usar

49. Inserto: BD™ Frascos de cultivo BACTEC™ Myco/F Lytic. Caldo Middlebrook 7H9 suplementado y caldo de infusión de cerebro y corazón. Para uso con instrumentos BACTEC de la serie fluorescente

50. Inserto: Blood collection instructions for use with the BD BACTEC™ Blood Culture System

51. Manual de usuario: BD BACTEC™ 9120/9240. Becton Dickinson de México, S. A de C. V.

52. Manual de utilización: SIEMENS MicroScan® Panel para identificación rápida de levaduras

10. ANEXOS

Diagrama 10.1 Procedimiento de diagnóstico en el Lab. de Parasitología y Micología del INP.

