



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

TESIS

CORRELACIÓN CLÍNICA DEL ANTÍGENO MANANO Y PCR EN  
TIEMPO REAL PARA CÁNDIDA, EN EL DIAGNÓSTICO DE  
CANDIDIASIS INVASIVA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS DEL  
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ.

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN  
INFECTOLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

DRA. CARLA CARVAJAL GUTIÉRREZ



DIRECTORA DE TESIS:

M. EN C. MARTHA AVILÉS ROBLES



FEBRERO 2016 MÉXICO D.F.



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

**HOJA DE FIRMAS**

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

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'M. Avilés Robles', written over the printed name below.

**M. EN C. MARTHA AVILÉS ROBLES**  
**MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE INFECTOLOGÍA**

## DEDIATORIA

A mis padres

Los artífices y protagonistas de mis metas alcanzadas, cuya tenacidad, fuerza y apoyo en este camino me han permitido seguir adelante en la lucha por alcanzar mis sueños y mi realización profesional, sin su amor incondicional el éxito de mis logros no valdría la pena.

A mi hermano

Mi cómplice de juegos, de risas y bromas, mi compañero omnipresente en el camino de la vida, su apoyo y cariño incondicional han hecho posible este nuevo logro.

A mi princesa Andrea

Mi impulso, mi fuente de energía, mi razón de ser, su existencia me exige ser mejor cada día, mejor madre, mejor ser humano, mejor médico, su amor me inspira y me mantiene en el camino.

A Dios

Siendo consciente que durante estos dos años de esfuerzo, cada día me ha manifestado su amor y su presencia a través de todas las personas maravillosas que puso en mi camino durante este tiempo.

## INDICE

Resumen .....	1
Introducción .....	2
Marco teórico .....	3
Antecedentes .....	17
Planteamiento del problema .....	22
Pregunta de investigación .....	23
Justificación .....	24
Objetivos .....	25
Hipótesis .....	26
Metodología .....	27
Resultados .....	34
Discusión .....	41
Conclusiones .....	46
Bibliografía .....	47
Anexos .....	51

## RESUMEN

**Antecedentes:** Las infecciones por hongos del género *Candida* son las más frecuentes en pacientes pediátricos con factores de riesgo para enfermedad fúngica invasiva (IFI). Los factores de riesgo para candidemia son muchos y están claramente descritos y son utilizados para la selección de pacientes con sospecha de candidemia. El diagnóstico clínico de candidemia sigue siendo un reto, ya que las manifestaciones clínicas son muy inespecíficas. Los métodos microbiológicos e histopatológicos son criterios de diagnóstico definitivo de la infección por *Candida*. Sin embargo estos métodos tienen una baja sensibilidad y especificidad. Debido a esto y ante la necesidad de realizar un diagnóstico oportuno en estas infecciones se han desarrollado en las últimas décadas, métodos diagnósticos no basados en cultivos (biomarcadores). Los principales biomarcadores séricos en el diagnóstico de Candidiasis incluyen 1-3  $\beta$ - D- glucano (BDG), antígeno Manano (Mn), anticuerpo anti-manano y DNA de *Candida*. Múltiples estudios realizados para valorar la utilidad de estas pruebas en el diagnóstico de Candidemia, reportan resultados alentadores.

**Objetivo:** Correlacionar las características clínico-epidemiológicas, con el Mn, y PCR-TR para *Candida* en el diagnóstico de CI en pacientes pediátrico.

**Material y métodos:** se realizó un estudio prospectivo, longitudinal, analítico, de prueba diagnóstica, incluyendo pacientes de 0 a 18 años de edad ingresados en el Hospital Infantil Federico Gómez de Agosto 2014 a Junio 2015 con sospecha clínica de candidemia.

**Resultados:** En el presente estudio sin embargo la determinación del antígeno manano de *Candida*, tomando el hemocultivo como estándar en el diagnóstico, reporta sensibilidad y especificidad de 31% y 71%, al usar un constructo clínico de sospecha de Candidiasis se obtuvo una sensibilidad de 34% y especificidad de 73%. Para el PCR de *Candida*, al tomar el hemocultivo como estándar diagnóstico se determinó una sensibilidad de 18% y una especificidad de 71% y tomando el constructo clínico como estándar se reportó sensibilidad de 19% y especificidad de 81%. Con los valores obtenidos tanto el manano de *Candida* como la PCR para *Candida* no son pruebas útiles en nuestra población para detectar pacientes con infección invasora por *Candida*.

**Conclusiones:** Dada la importancia que se ha demostrado en el inicio temprano de la terapia antimicótica en pacientes pediátricos y la necesidad de establecer un diagnóstico temprano de la infección para mejorar las estrategias de manejo y procurar esquemas dirigidos para evitar la resistencia creciente a los agentes antifúngicos, se hace necesario y urgente la evaluación e implementación de otras pruebas diagnósticas no basadas en cultivos (biomarcadores) que permitan alcanzar estas metas en nuestra población.

## INTRODUCCIÓN

Dentro del reino fungi, el género *Candida* es la causa más común de micosis oportunistas en pacientes pediátricos con factores de riesgo y pueden desencadenar desde trastornos mucocutáneos hasta una enfermedad invasiva que afecte a prácticamente cualquier órgano. La infección fúngica invasiva constituye una complicación frecuente de los pacientes pediátricos.<sup>1</sup>

Los factores de riesgo que se asocian a un incremento en el riesgo de presentar una candidiasis invasiva (CI) incluyen el uso de antibióticos de amplio espectro, estancia en unidades de cuidados intensivos, presencia de catéteres venosos centrales, recepción de nutrición parenteral total, neutropenia, uso de dispositivos médicos implantables, procedimientos quirúrgicos, pacientes prematuros y la recepción de agentes inmunosupresores (incluyendo glucocorticoides, agentes quimioterapéuticos e inmunomoduladores).<sup>1,2</sup>

El diagnóstico de la CI a través del laboratorio, se basa en 3 estrategias complementarias: la observación del hongo en la muestra clínica, el cultivo y la detección de marcadores biológicos; componentes que circulan por el torrente sanguíneo de los pacientes con candidiasis invasiva.<sup>3</sup> A pesar de los recientes avances en el desarrollo de herramientas diagnósticas, la candidiasis invasiva (CI) continúa siendo difícil de diagnosticar en pacientes pediátricos, dado que los cultivos y los hallazgos histológicos a menudo son falsamente negativos, o se hacen positivos en el curso tardío de la infección.<sup>4</sup>

Estudios demuestran que una demora de 12 a 48 horas en la administración de una terapia antifúngica se asocia con un aumento significativo en la mortalidad.<sup>5</sup> Por otro lado, el uso de una terapia antifúngica empírica (con azoles o polienos) es frecuente en pacientes de alto riesgo, conduciendo a un incremento en la emergencia de cepas de *Candida* resistentes a antifúngicos, eventos adversos relacionados al medicamento y un incremento en costos.<sup>6</sup>

El diagnóstico de la CI puede verse favorecido en la actualidad por diversas herramientas diagnósticas que no dependen del aislamiento en cultivo del microorganismo. Recientemente se han introducido técnicas no basadas en cultivos para el diagnóstico de la CI basados en biomarcadores de la pared de *Candida*, ofrecen la ventaja de ser fáciles y seguros de utilizar, evitan procedimientos diagnósticos invasivos y realizan un diagnóstico oportuno, los principales son: el manano (Mn),  $\beta$ -1-3-D glucano (BDG) y métodos basados en la detección de DNA por medio de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR-TR).<sup>1,3</sup> Se continúa evaluando la efectividad de estas pruebas en diferentes tipos de pacientes. La información sobre la correlación de estos marcadores con la presentación clínica de la CI en población pediátrica es limitada.

## MARCO TEÓRICO

Las infecciones por hongos del género *Candida* son las más frecuentes en pacientes pediátricos con factores de riesgo para enfermedad fúngica invasiva (IFI). En total existen más de 150 especies de *Candida* identificadas, pero solo de 20 a 30 especies se han reportado como causa de infección en humanos.<sup>9</sup>

Las especies de *Candida* son hongos levaduriformes que existen predominantemente en forma unicelular. Están constituidas por células ovoideas, de 4 a 6 micras de diámetro, que se reproducen por gemación. No requieren medios de cultivo especiales para su aislamiento, ya que crecen adecuadamente en placas de agar y en botellas de hemocultivo, aunque también se han desarrollado medios de cultivos selectivos que permiten su crecimiento en condiciones idóneas, sin aportar estos una ayuda significativa en el tiempo de crecimiento o identificación aunque su detección puede acelerarse con el uso de métodos automatizados. *Cándida* forma colonias redondas, lisas, brillantes, color blanco o crema en las placas de agar. *Candida spp* adopta formas filamentosas (hifas, pseudohifas) en los tejidos, pudiendo observarse éstas en los especímenes clínicos.<sup>10</sup>

De las especies documentadas en humanos más del 95% de candidiasis invasiva son causadas por *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei*, aunque *C. albicans* es la especie más comúnmente implicada.<sup>9</sup> *C. albicans* ha sido aislada a partir de muestras de tierra, animales, objetos inanimados y alimentos. Es muy rara su participación como contaminante en laboratorios. Estos organismos son comensales naturales de los seres humanos y se pueden encontrar frecuentemente en piel, cavidad oral, vagina y a lo largo del tracto gastrointestinal. También puede encontrarse de forma habitual en muestras de esputo y en la orina de pacientes con sondas urinarias.<sup>10</sup>

En 1861, Zenker describió el primer caso bien documentado de candidiasis profunda en humanos. Sin embargo, fue con el empleo extendido de antimicrobianos, a partir de la década de 1940, que la incidencia de infección por *cándida* -en todas sus formas- aumentó de forma abrupta.<sup>11</sup>

Candidemia es la cuarta infección del torrente sanguíneo más común en EEUU y está asociada con una mortalidad atribuible que excede el 40% en algunos reportes. Además de candidemia, la candidiasis invasiva comprende un amplio espectro de infecciones en órganos profundos, reflejando la notable habilidad de las especies de *Candida* para infectar virtualmente cualquier órgano una vez que accede al torrente sanguíneo. Las infecciones a órganos profundos pueden encontrarse en presencia o ausencia de candidemia documentada.<sup>9</sup>

La emergencia de candidiasis invasiva en las últimas décadas como un problema importante de salud es resultado de los avances en los cuidados médicos en pacientes críticamente enfermos, el uso más amplio de agentes inmunosupresores y el desarrollo de técnicas intervencionistas e invasivas. Las infecciones por *Candida* representan un reto significativo para los sistemas de salud, dada su frecuencia creciente y el incremento en la mortalidad, tiempo de hospitalización y costos que representan.<sup>12</sup>

La mayoría de infecciones por *Candida spp* son endógenas. Sin embargo, la transmisión entre humanos también es posible, y la infección por *Candida* puede adquirirse a partir del medio hospitalario.<sup>10</sup>

Aunque las especies de *Candida* generalmente son consideradas gérmenes oportunistas que constituyen una complicación frecuente de los pacientes con cáncer; representando una mayor morbilidad y mortalidad, se han encontrado en incremento en pacientes sin neutropenia u otra forma de inmunosupresión profunda.<sup>12</sup>

Antes de la era de la profilaxis antifúngica de rutina en pacientes oncológicos, la especie de *Candida* que les afectaba con más frecuencia era *C. albicans*, con más de 50%, sin embargo el amplio uso de fluconazol como profilaxis ha coincidido con el cambio en la distribución de las especies de *Candida* en este grupo de pacientes, mostrando un predominio de las especies *no albicans*, principalmente *C. glabrata* y *C. kruseii*. Esta misma tendencia ha sido reportada en estudios tanto de Europa como Estados Unidos, Brazil y Argentina.<sup>12</sup> Otro aspecto interesante de estos cambios es la emergencia de *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* en estos pacientes.<sup>13</sup>

Los factores de riesgo para candidemia son muchos y están claramente descritos como son neutropenia, recibir tratamiento inmunosupresor, otras condiciones relacionadas con la supresión de la función inmune, recibir antibióticos de amplio espectro, uso de catéter venoso central, uso de sonda urinaria, nutrición parenteral total, lesiones por quemaduras, cirugía gastrointestinal, hemodiálisis y otras terapias de reemplazo renal.<sup>12</sup>

*Candida*, a menudo se encuentra en pacientes no inmunocomprometidos ingresados en UCI y puede causar sepsis, choque séptico y falla de múltiples órganos, al igual que las bacterias.<sup>15</sup>

Más de dos tercios de las candidiasis invasivas se presentan con candidemia la cual se afecta hasta 37% de los pacientes ingresados en UCI, de acuerdo a diferentes reportes, si bien su incidencia incrementa en este grupo de pacientes de manera directamente proporcional al tiempo de hospitalización, otros autores reportan presencia de esta infección tan pronto como en los primeros 5 días. En pacientes post quirúrgicos ingresados en UCI se ha reportado una incidencia de candidemia de hasta 44%.<sup>16</sup>

Diferentes especies de *Candida* se asocian a diferentes cargas de mortalidad, y esto puede variar en cada subgrupo de pacientes y de acuerdo a la ecología propia de cada unidad de salud. También las diferentes especies se describen con diferentes frecuencias de acuerdo al tipo de paciente y los factores de riesgo que presentan, por ejemplo, *C. kruseii* y *C. tropicalis* son típicamente vistas en pacientes con leucemia, mientras *C. parapsilosis* se encuentra en neonatos y frecuente causa de candidemia relacionada a CVC.<sup>12</sup>

### **Factores de riesgo en pacientes pediátricos:**

- Neutropenia, especialmente cuando es prolongada
- Colonización previa por *Candida spp.* especialmente del tracto gastrointestinal.
- Candiduria
- Enfermedad de base no controlada
- Terapia con corticoide
- Diabetes Mellitus
- Antibióticos de amplio espectro
- Ingreso en la UCI
- Cirugía abdominal reciente
- Enfermedad renal y tratamiento sustitutivo renal
- Nutrición Parenteral Total
- Trasplante alógeno de células progenitoras hematopoyéticas
- Trasplante de órganos sólidos
- Enfermedad injerto contra huésped
- Colocación de CVC
- Quimioterapia
- Enfermedad por Citomegalovirus
- Recién nacidos prematuros o con baja puntuación de Apgar
- Episodio previo de bacteriemia.<sup>13</sup>

En un estudio de casos y controles publicado en 2013 por Klatter y cols. se describieron los siguientes factores de riesgo para candidemia asociada a catéter venoso central en pacientes pediátricos: falla intestinal, sonda de gastrostomía, nutrición parenteral total y transfusiones sanguíneas.<sup>12</sup>

La mayoría de los estudios publicados muestran que el retiro temprano de CVC, menos de 48 horas del inicio de la candidemia, se relaciona con una disminución de la mortalidad. En los pacientes con cáncer y neutropenia este aspecto no es tan claro, ya que en ellos la principal causa de la CI es a través del tracto gastrointestinal y no de CVC. Sin embargo, en aquellos pacientes de este grupo, cuya fuente de infección es el CVC, se ha demostrado que el retiro del dispositivo en las primeras 72 horas después de un resultado positivo en cultivo, mejora la respuesta a la terapia antifúngica.<sup>12</sup>

### **Factores relacionados a falla de tratamiento y mal pronóstico en pacientes pediátricos con candidiasis invasiva**

- Neutropenia prolongada más de 10 días
- Ingreso a la UCI
- Alta carga fúngica en sangre periférica (> 100UFC/ml)
- Retraso mayor a 48 horas en el inicio de tratamiento apropiado.
- No retirar el CVC en candidemia relacionada a CVC
- Falla renal
- Tratamiento con corticoides
- Aislamiento resistente a fluconazol.<sup>12</sup>

## **Fisiopatogenia**

Hay diferentes mecanismos patogénicos de CI en los pacientes de UCI. Los CVCs son evidentemente una puerta de entrada y el desarrollo de biopelícula alrededor del CVC juegan el papel más importante en la evolución a una candidemia relacionada a CVC. Las manos del personal de salud suelen estar colonizadas por especies de *Candida* y se ha demostrado su papel en la transmisión de la infección entre los pacientes de un servicio.<sup>20</sup>

La colonización de los pacientes parece jugar un papel importante en la génesis de candidemia, estudios han demostrado que el 100% de los pacientes ingresados en UCI con candidemia tenían el antecedente de colonización previa. Se ha documentado que la colonización de los pacientes al ingreso a UCI es de 5% a 15%, mientras que durante la hospitalización puede alcanzar de 50% a 80%. Además solo 5-30% de los pacientes colonizados presentaran CI.<sup>20</sup>

Posterior a la colonización, *Candida* se disemina por tres vías principales: la barrera del tracto gastrointestinal, los catéteres intravasculares o por medio de infección fúngica localizada. De un 50% a un 80% de los pacientes que se encuentran hospitalizados en unidades de terapia intensiva se colonizan. Actualmente, la colonización por *Candida* se considera un factor de riesgo y no una enfermedad por sí misma.<sup>19</sup>

Existen tres componentes importantes para la patogénesis de la candidiasis invasiva:

- 1) Carga fúngica elevada o colonización (generalmente como resultado de uso de antibióticos de amplio espectro)
- 2) Ruptura de las barreras normales como piel y/o mucosas (como resultado de procedimientos quirúrgicos, trauma, colocación de catéteres, mucositis asociada a quimioterapia y radiación)
- 3) Alteración inmunológica (neutropenia o inmunocompromiso), dando como resultado la diseminación y proliferación a tejidos más profundos.<sup>19</sup>

*Candida* es capaz de adherirse al epitelio de la cavidad oral, tubo digestivo y vagina, al endotelio, fibronectina, linfocitos, coágulos de plaquetas y fibrina, así como a una serie de materiales artificiales de plástico y acrílico.<sup>14</sup>

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

individuo, los factores iatrogénicos son los más influyentes en la génesis de la candidiasis invasora.<sup>14</sup>

La patogenicidad de *Candida spp.* es atribuida a ciertos factores de virulencia, entre los que destacan la habilidad para evadir las defensas del hospedero, la capacidad de adherencia, la producción de biopelícula tanto en tejidos como en material protésico, y la producción de enzimas que lesionan los tejidos, como proteasas, fosfolipasas y hemolisinas.<sup>11</sup>

Candidiasis invasora: El término “candidiasis invasora” abarca una amplia variedad de procesos graves ocasionados por este hongo, incluyendo la candidemia, candidiasis diseminada, endocarditis, meningitis, endoftalmitis y otras formas de involucro a órganos profundos. De este modo se excluyen las infecciones más leves y superficiales, como las formas mucocutáneas de candidiasis.<sup>14</sup>

Los grupos de pacientes más propensos a sufrir candidiasis invasora son los que sufren enfermedades neoplásicas (especialmente leucemias agudas) y reciben quimioterapia, los pacientes quemados, los recién nacidos de bajo peso y los receptores de trasplante de órganos, así como aquellos con estancia prolongada en unidades de cuidados intensivos o con un postoperatorio complicado, especialmente tras cirugía cardíaca o gastrointestinal. Las especies de *Candida* son responsables de entre 9 y 12% de las infecciones del torrente sanguíneo de causa nosocomial, principalmente en las UCI, donde se documentan de 33% a 55% de las candidemias nosocomiales. Estudios recientes reportan una incidencia de 6.9 candidemias por 1000 ingresos en UCI.<sup>10</sup>

La candidemia es la manifestación de candidiasis invasora más frecuentemente reconocida, presentándose en 50 a 70% de los pacientes. La detección de *Candida* en hemocultivo nunca debe tomarse como contaminante, y amerita tomar medidas de manera inmediata, incluyendo el inicio de terapia antifúngica y el retiro de accesos venosos centrales si están presentes. Cabe destacar que los pacientes con candidemia representan un amplio espectro clínico, desde aquellos con candidemia autolimitada asociada a colonización de accesos vasculares, hasta aquellos con sepsis grave, e involucro de múltiples órganos<sup>14</sup> dentro de los cuales los más frecuentes son riñón, SNC, ojos, válvulas cardíacas y abscesos hepato-esplénicos.<sup>21</sup>

La candidemia o candidiasis invasiva por lo general sigue el curso de dos momentos en dos grupos poblacionales de riesgo. En pacientes hemato-oncológicos, la candidemia generalmente ocurre después de pocos días de fiebre y neutropenia inducida por quimioterapia, siguiendo principalmente a una mucositis o por traslocación intestinal. En una etapa tardía puede presentarse hacia el final de la neutropenia y la forma clínica más común es la invasión de órganos profundos como hígado, bazo y pulmones. En los pacientes no hemato-oncológicos la candidiasis invasiva o candidemia ocurre en pacientes con enfermedad avanzada o después de cirugía abdominal complicada a menudo durante su estancia en UCI.<sup>18</sup>

La candidiasis invasiva puede tener diferentes manifestaciones según el sistema que afecte, presentando diversos signos inflamatorios locales y sistémicos, en un espectro desde sepsis,

sepsis grave, choque séptico y hasta falla orgánica múltiple y por tanto, no existen criterios diagnósticos específicos.<sup>19</sup>

La candidiasis diseminada aguda se observa más frecuentemente en pacientes con neutropenia secundaria a quimioterapia citotóxica, usualmente en el contexto de una neoplasia hematológica. La mayoría de estos pacientes que cursan con candidemia, se encuentran gravemente enfermos y pueden tener involucro y falla multiorgánicas.<sup>14</sup>

La candidiasis diseminada crónica o candidiasis hepato-esplénica se presenta de forma casi exclusiva en pacientes que reciben quimioterapia mieloablativa y que cursaron con candidiasis invasora durante el período de neutropenia. Al presentar recuperación medular, estos pacientes presentan típicamente fiebre de bajo grado y dolor en hipocondrio derecho, asociado frecuentemente a hepato-esplenomegalia y elevación de fosfatasa alcalina. Los estudios de imagen (tomografía computada o ultrasonido abdominal) revelan múltiples lesiones focales en el hígado, bazo y riñones.<sup>14</sup> La afectación renal puede conducir a la formación de fungomas, calcificaciones renales, uropatía obstructiva, abscesos renales y falla renal. La meningoencefalitis por *Candida* a menudo se asocia con el desarrollo de abscesos, ventriculitis, vasculitis, inflamación ependimal, calcificación, hidrocefalia obstructiva y formación de trombos.<sup>21</sup>

Hasta los años 80 las infecciones fúngicas eran diagnosticadas pocas veces en los Servicios de Neonatología y cuando ocurría casi siempre se trataba de un hallazgo necrópsico. En la década de los 80 se observó un aumento de las infecciones neonatales por hongos con relación a la mayor supervivencia de los recién nacidos de muy bajo peso. El género de hongo que con más frecuencia afecta a recién nacidos (RN) es *Candida spp*. La cual coloniza mucosas y principalmente el tracto gastrointestinal desde los primeros días de vida. El espectro de la infección en este grupo de pacientes puede ir desde escasa gravedad por afectación mucocutánea hasta infecciones graves que ponen en peligro la vida del RN.<sup>22</sup>

En el RN cuyas defensas frente a la infección estén modificadas por enfermedad o tratamiento la *Candida* es más fácilmente responsable de infección diseminada grave. Se define la CI por la presencia de clínica séptica y el aislamiento de *Candida* en sangre, líquido cefalorraquídeo (LCR), cultivo de orina obtenida por punción vesical o por el hallazgo multiorgánico de *Candida* en el estudio necrópsico.<sup>22</sup>

En los estudios de RN publicados, la mortalidad varía dependiendo de la precocidad del diagnóstico, la retirada o no de los CVC, la especie de *Candida* aislada, el tipo de CI y el fármaco empleado en el tratamiento.<sup>22</sup>

### **Clasificación de la infección fúngica invasiva**

Numerosas guías se han publicado en varios países y por diferentes sociedades científicas; todas tienen el objetivo común de proveer a los clínicos con la mejor orientación para su trabajo clínico diario.

La EORTC/MSG en 2008 emitió recomendaciones para la clasificación de IFI de acuerdo a criterios clínicos microbiológicos en 3 categorías: La IFI puede ser definida como “probada”, “probable” o “posible” con una certeza variable de la infección. Una IFI probada requiere que el hongo sea identificado por estudios histopatológicos o por cultivo de tejidos obtenidos del sitio de infección.

Tabla 2. Criterios para la clasificación de IFI probable por *Candida spp.*

Criterios	
Factores del hospedero	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Historia de neutropenia reciente (RAN &lt;500mm<sup>3</sup>) por &gt;10 días</li> <li>- TCPH reciente</li> <li>- Uso prolongado de corticoesteroides a una dosis mínima de 0.3mg/kg/día de prednisona por &gt;3 semanas</li> <li>- Tratamiento con otros inmunosupresores de células T como: ciclosporina, bloqueadores del FNT alfa, alentuzumab o análogos nucleósidos, durante los 90 días previos.</li> <li>- Inmunodeficiencia primaria grave (como enfermedad granulomatosa crónica o inmunodeficiencia combinada grave)</li> </ul>
Criterios clínicos	<p>Candidiasis diseminada<sup>a</sup>:            Por lo menos 1 de las siguientes 2 entidades, presentándose después de un episodio de candidemia en las 2 semanas previas:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Lesiones pequeñas con imagen de tiro al blanco (lesiones en ojo de buey), presentes en hígado o bazo.</li> <li>- Exudados retinianos progresivos, evidenciados durante una examinación oftalmológica.</li> </ul>
Criterios microbiológicos	<p>Exámenes indirectos (detección de antígenos o fragmentos de la pared celular)<sup>b</sup>:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Detección de β-1,3-D-glucano en suero</li> </ul>

RAN: Recuento absoluto de neutrófilos, TCPH: trasplante de células progenitoras hematopoyéticas,

<sup>a</sup> La presencia de signos y síntomas consistentes con sepsis indica una enfermedad diseminada aguda, mientras que la ausencia de estos denota una enfermedad diseminada crónica.

<sup>b</sup> La detección de ácidos nucleicos no se encuentra incluida debido a que actualmente no se cuenta con una prueba validada o métodos estandarizados.

Fuente: *Clin Infect Dis* 2008; 46 : 1813–21.

Las definiciones de IFI del EORTC/MSG se han utilizado en la mayoría de ensayos clínicos que evalúan la eficacia de drogas antifúngicas, en la formulación de guías de práctica clínica, en la validación de pruebas diagnósticas y para el desarrollo de estudios epidemiológicos.<sup>7,8</sup>

## Diagnóstico

Históricamente el diagnóstico de las infecciones fúngicas invasivas (IFI) ha sido limitado a la correlación de signos y síntomas clínicos y la detección del patógeno en muestras clínicas. Los métodos microbiológicos e histopatológicos convencionales sirven como piedra angular en el establecimiento de un diagnóstico definitivo. Sin embargo estos métodos convencionales, incluyendo hemocultivo tienen un desarrollo lento y una baja sensibilidad y especificidad y no pueden distinguir entre colonización e infección. Los hemocultivos son negativos en aproximadamente 65% de los pacientes con candidemia.<sup>17</sup>

A pesar de que se han determinado claramente los factores de riesgo que se asocian a CI y que estos ya son reconocidos por los médicos, el diagnóstico clínico de candidemia sigue siendo un reto, ya que las manifestaciones clínicas son muy inespecíficas y puede ir desde un cuadro asintomático hasta choque séptico. Por lo tanto los médicos no pueden confiar únicamente en los hallazgos clínicos o las pruebas estándar de laboratorio existentes para identificar de forma confiable los subgrupos de pacientes que tienen mayor probabilidad de presentar candidiasis invasiva. El diagnóstico oportuno y preciso de candidiasis invasiva está limitado ya que las pruebas diagnósticas existentes son insuficientes.<sup>12</sup>

El diagnóstico de las infecciones fúngicas invasivas ha cambiado y está basado en un cuidadoso análisis de factores clínicos y tomando en cuenta hallazgos radiológicos de TAC, microbiológicos y la detección de antígenos.<sup>23</sup>

Kumar y cols. demostraron un incremento en la mortalidad de 12% por cada hora de retraso en el inicio de tratamiento antimicótico en pacientes con sepsis fúngica y choque. Así mismo, Morell y cols. mostraron que la administración de antifúngicos más de 12 horas tras el primer hemocultivo positivo, incrementa de manera significativa el riesgo de mortalidad.<sup>7,12</sup>

Si se toma en cuenta que los estudios han demostrado que el retraso de 12 a 48 horas en el inicio del tratamiento antifúngico para candidemia se asocia con incremento del riesgo de mortalidad, es de esperar que muchas veces los médicos se vean presionados para iniciar la terapia antifúngica de manera empírica sobre todo en pacientes con evidencia de factores de riesgo y en condiciones de gravedad, el problema muchas veces es que una vez iniciada esta acción, por las mismas limitaciones de las pruebas diagnósticas confirmatorias ya citadas, el médico se ve limitado para la decisión de retirar de manera temprana este tratamiento si no se confirma la infección, el resultado son muy frecuentemente esquemas de tratamientos prolongados, lo que incrementa los costos y puede contribuir en el desarrollo de resistencia a ciertos agentes antifúngicos sin mostrar beneficios en la sobrevida de los pacientes.<sup>12</sup>

Por lo tanto, en la actualidad y con los métodos diagnósticos disponibles para candidiasis invasiva, el médico se ve limitado a tomar una de 2 opciones sub óptimas: 1) esperar a tratar al paciente hasta que el diagnóstico definitivo sea emitido, frecuentemente por hemocultivo, aceptando que un número de pacientes con candidemia no será identificado o será identificado demasiado tarde para ser beneficiado con el tratamiento; 2) tratar empíricamente a un gran número de pacientes que no tienen enfermedad o que nunca la desarrollaran a pesar de los

factores de riesgo, tratando de cubrir un porcentaje relativamente pequeño de quienes si se beneficiaran del tratamiento empírico, aceptando los costos financieros, el potencial toxico del tratamiento, efectos adversos, interacciones, selección de resistencia y el impacto en la ecología microbiológica del hospital.<sup>12</sup>

El diagnóstico de las micosis invasoras se debe basar en una visión global de la situación del enfermo valorando los factores de riesgo, datos clínicos, radiológicos y las diferentes pruebas de diagnóstico microbiológico y anatomopatológico.<sup>23</sup>

Entre los métodos de diagnóstico micológico considerados como convencionales podemos destacar el estudio macro y microscópico de las muestras clínicas, su cultivo en medios artificiales para poder aislar al agente causal de la micosis o la evaluación de la respuesta inmune del enfermo frente a este, principalmente mediante la detección de anticuerpos frente a diferentes antígenos fúngicos específicos.<sup>24</sup>

El estudio microscópico de los tejidos o de las muestras de citología puede permitir observar estructuras características de los hongos o la respuesta inflamatoria del enfermo frente a estos patógenos. Este estudio anatomo patológico realizado por un experto sigue siendo uno de los pilares diagnósticos básicos para poder confirmar una micosis invasora. Sin embargo, tiene muchas limitaciones tanto por la necesidad de que lo realicen personas con gran experiencia en la anatomía patológica de las infecciones fúngicas, lo que no siempre es posible, como porque la observación de estas estructuras características de los hongos solo es posible cuando son abundantes y esto ocurre de forma más habitual en los estadios avanzados de la infección, cuando los daños orgánicos son importantes y, muchas veces, irreversibles.<sup>24</sup>

El cultivo de las muestras clínicas en medios microbiológicos apropiados es necesario para el diagnóstico etiológico porque permite el aislamiento del agente causante de la micosis, su identificación y la realización de estudios posteriores que permitan determinar su sensibilidad in vitro a los antifúngicos, la presencia de determinados factores de virulencia o su tipificación epidemiológica.<sup>24</sup>

Actualmente el estándar de oro del diagnóstico de candidiasis invasiva es el cultivo de sangre o de tejido de un sitio estéril, el cual típicamente requiere de 24 a 48 horas para emitir resultado positivo y un tiempo adicional para la identificación del germen. Los hemocultivos son el método más utilizado, sin embargo está limitado por el tiempo que tarda en volverse positivo y su sensibilidad baja, por lo que incluso cuando los hemocultivos revelan aislamiento de *Candida*, este resultado a menudo es tardío en el curso de la enfermedad. A pesar de los avances en las técnicas microbiológicas para recuperar especies de *Candida* de hemocultivos, la baja magnitud y la corta duración de la candidemia en animales experimentales con candidiasis invasiva sugiere que la sensibilidad permanecerá inadecuada.<sup>12</sup>

Las recomendaciones de la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (ESCMID por sus siglas en inglés: European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases) para el diagnóstico de candidemia incluyen la toma de 3 hemocultivos en una sola sesión, con un volumen total que varía de acuerdo a la edad del paciente: de 2ml a 4ml

en niños menores de 2 kg, 6ml en niños entre 2 kg a 12 kg y 20ml para niños entre 12 y 36 kg. El tiempo de obtención de estas muestras debe ser uno después del otro, tomados de diferentes sitios y la técnica de venopunción continúa siendo la de elección. El periodo de incubación de las botellas de cultivo debe ser de por lo menos 5 días.<sup>13</sup> La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA por sus siglas en Inglés: Infectious Diseases Society of America) recomienda los siguientes volúmenes de sangre para hemocultivos en población pediátrica: 2ml en pacientes menores de 2kg, 4ml para pacientes entre 2.1 y 12.8kg, 10ml para pacientes entre 12.8 y 36.3kg y 20ml en pacientes mayores de 36.3kg.<sup>14</sup>

La automatización de los hemocultivos ha permitido acortar el tiempo de diagnóstico en aquellas micosis invasoras, como la candidiasis, en las que la fungemia es relativamente frecuente. La identificación del hongo aislado se va a basar en la morfología macroscópica de las colonias y en la microscópica del hongo y sus propiedades bioquímicas, fisiológicas e inmunológicas.<sup>24</sup>

En los pacientes neutropénicos solo del 35% al 50% de los hemocultivos resulta positivo al inicio de la enfermedad. Además la profilaxis antifúngica disminuye la sensibilidad del hemocultivo en estos pacientes. Además el hemocultivo tarda al menos 72 horas en tornarse positivo, y otras 48 horas para realizar la identificación.<sup>13</sup>

Estos defectos en el hemocultivo para el diagnóstico de candidiasis invasiva ha despertado interés por el desarrollo de pruebas alternativas no basadas en cultivo, que den respuesta a este problema, entre ellos se encuentran los métodos moleculares para detección de DNA de *Candida* mediante técnica de PCR-TR, la cual parece una alternativa atractiva ya que ofrece un resultado rápido tanto para diagnóstico como para identificación de especie, ofreciendo la opción de un inicio temprano del tratamiento antifúngico de hasta 6 horas posteriores a el establecimiento de la sospecha.<sup>12</sup>

El impacto de CI en pacientes de alto riesgo es indiscutible, ambas, la frecuencia y la mortalidad asociadas a la infección continúan incrementando a pesar de la introducción de terapias potentes y efectivas. Está claro además que el tiempo que se retrasa el diagnóstico y la instauración de un efectivo tratamiento antifúngico de manera innecesaria, incrementa la morbilidad, mortalidad y costos. Dado que cada hora de retraso en el tratamiento de sepsis se asocia a un incremento de 8% de la mortalidad, es importante notar que la mediana de tiempo en el inicio de la terapia antimicrobiana en choque séptico es 5.5 horas para bacterias y 31.5 horas para *Candida*; claramente un medio de diagnóstico más rápido, sensible y específico para CI es una necesidad inminente.<sup>25</sup>

En un reciente estudio en pacientes con cáncer y candidemia, los investigadores recolectaron datos sobre el tiempo de la toma del hemocultivo a la positividad, desde la positividad del cultivo a la notificación por parte del laboratorio y de la notificación del resultado a la primera dosis de antifúngico recibida por el paciente. Observaron que el tiempo desde la toma hasta la positividad del hemocultivo fue el periodo que más se asocio a incremento en la mortalidad de los pacientes.<sup>25</sup>

La detección de biomarcadores, como BG, GM y GXM, es útil en las micosis invasoras en pacientes inmunodeficientes y son considerados criterios diagnósticos por la EORTC/MSG. El diagnóstico de las micosis invasoras por PCR puede ser una alternativa útil en un futuro próximo

tanto para el diagnóstico como para la detección de resistencias potenciales y la monitorización del tratamiento antifúngico. Sin embargo, su falta actual de estandarización y validación en las distintas fases que la componen es la razón por la que la EORTC/MSG sigue sin incluirla como criterio diagnóstico de micosis invasora. De entre las distintas técnicas disponibles, la PCRtr parece ser la técnica más ventajosa y conveniente.<sup>23</sup>

Los principales biomarcadores séricos en el diagnóstico de Candidiasis incluyen 1-3  $\beta$ -D-glucano (BDG), antígeno Manano (Mn), anticuerpo anti-manano y DNA de *Candida*.<sup>9</sup>

De acuerdo al grupo de trabajo de Definiciones de Biomarcadores, un biomarcador o marcador biológico es "una característica que es objetivamente medible y evaluada como un indicador de un proceso biológico normal, proceso patogénico o respuesta farmacológica a una intervención terapéutica". Aunque estrictamente definido como sustancias cuantificables y medibles producidas por el cuerpo humano en respuesta a una infección particular o a un cambio reciente en el estado de salud de la persona, los biomarcadores pueden también ser definidos como sustancias o antígenos microbianos producidos por organismos dentro del cuerpo humano. Los estudios de biomarcadores se han vuelto populares en los últimos años por la rápida información que pueden proveer a partir de muestras no invasivas, más allá de los datos clínicos y de laboratorio de rutina.<sup>26</sup>

El diagnóstico molecular tiene la gran ventaja de que no necesita basarse en el cultivo del microorganismo y la detección de biomarcadores fúngicos ofrece grandes esperanzas a corto plazo.<sup>24</sup>

### **Manano:**

Es un polisacárido unido a la pared de *Candida*, representando el 7% de su peso seco y es altamente inmunogénico. Este antígeno puede incrementar en el suero de pacientes con candidemia, sin embargo su aclaramiento del torrente sanguíneo es rápido. Se han publicado variaciones en la sensibilidad y especificidad de esta prueba, pero en general se determina que se debe realizar una combinación de antígeno Mn y anticuerpos anti-Mn para obtener resultados óptimos. Se ha descrito que esta combinación de biomarcadores alcanza una sensibilidad y especificidad de 83% y 93% respectivamente. Sin embargo la IDSA en sus guías de candidiasis no recomienda su uso de rutina. Estos estudios diagnósticos tienen algunas limitaciones que no permiten considerarlos pruebas de diagnóstico definitivo, porque no permiten identificar a nivel de especie e incluso algunas veces no se logra determinar de forma confiable a nivel de género.<sup>13</sup>

Los métodos desarrollados para la detección del antígeno Mn en suero incluyen la aglutinación en látex y los ensayos inmunoenzimáticos. Los principales estudios que se han realizado en torno a la detección del antígeno Mn en pacientes con candidiasis invasora, se han llevado a cabo con la prueba Platelia *Candida* Ag (Laboratorios Bio-Rad), la cual se basa en un ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) que detecta residuos de oligomanosa unidos por enlaces  $\alpha$  del Mn.<sup>9</sup>

El antígeno Mn tiene una gran capacidad para generar la formación de anticuerpos con los que forma complejos inmunes en la circulación. La liberación del Mn de los inmuno complejos que forma con los anticuerpos es probablemente el paso más crítico de la prueba de detección y, junto con la transitoriedad de la mananemia, son la causa de la sensibilidad relativamente baja de la prueba, que suele estar entre el 40 y 70%.<sup>17, 18</sup> si se realiza una única determinación. Un aumento de la sensibilidad diagnóstica de la detección de Mn puede obtenerse al complementar la prueba con la detección de residuos de manosa unidos por enlaces  $\beta$ , ya que ambos antígenos tienen cinéticas de aclaramiento distintas.<sup>36</sup> De acuerdo a un estudio realizado por Sendid et al. la detección combinada de ambos antígenos alcanzó una sensibilidad de 90% y una especificidad de 95% con alto valor predictivo negativo.<sup>37,38</sup>

Se han desarrollado ensayos inmunoenzimáticos (EIA) para la detección de Mn. Aunque estos marcadores no están incluidos en la revisión de EORTC/MSG de los criterios para el diagnóstico de infección fúngica invasiva, su rendimiento ha sido evaluado en una revisión sistemática de la ECIL-3, la cual reporta sensibilidad de 59% y especificidad de 83%. Se observó una variabilidad de la especificidad y sensibilidad de esta prueba en dependencia de la especie de *Candida*, siendo más alta para *C.albicans*. La medición de Mn demostró ser útil en varios de los estudios incluidos ya que se observó un acortamiento en el tiempo de diagnóstico sobre todo en casos de candidiasis invasiva con afectación hepato-esplénica, con resultados positivos del ensayo 6 días previos a los hemocultivos y 16 días antes de las manifestaciones radiológicas.<sup>9</sup>

Cuando se evalúa el Mn como prueba diagnóstica se debe considerar el valor de corte que se utiliza. Según el manual del fabricante, la prueba Platelia™*Candida* Ag plus® es positiva con una concentración de Mn  $\geq 125$ pg/ml y se reporta como intermedia con un valor de Mn entre 62.5 pg/ml y 125pg/ml.<sup>17</sup>

De acuerdo a lo descrito desde hace más de una década, la mananemia se observa principalmente en ausencia de anticuerpos anti-manano (A-Mn) y los niveles altos de dichos anticuerpos no suelen asociarse con mananemia. Dado el balance observado entre la circulación del antígeno Mn y la respuesta de los anticuerpos A-Mn, la medición de ambos mediante ensayo inmunoenzimático puede ser un procedimiento diagnóstico útil.<sup>12</sup>

Dado que el antígeno Mn es detectado predominantemente en pacientes que desarrollan CI durante su primer ciclo de QT, pero en anticuerpo anti-*Candida* son detectados después de múltiples ciclos de quimioterapia, el rendimiento óptimo de estas pruebas en pacientes neutropénicos febriles, neutropénicos con neoplasias hematológicas se consigue con dos pruebas positivas consecutivas de ambas pruebas, antígeno Mn y anticuerpos anti-Mn.<sup>13</sup>

## PCR

Los métodos moleculares para el diagnóstico de candidiasis invasiva tienen potencialmente numerosas ventajas sobre los métodos de cultivo incluyendo: alta sensibilidad, rapidez de resultados, cuantificación de la carga de *Candida* en sangre, identificación de especie de *Candida*, la posibilidad de identificar mutaciones asociadas con resistencia a antifúngicos. Los diferentes ensayos de PCR que se han evaluado hasta el momento han mostrado sensibilidad y especificidad mayor al 90%, la sensibilidad fue mayor cuando se usaron muestras de plasma o

siero en comparación con sangre total y así mismo fue más alta en casos de candidiasis de sitios profundos que en casos de candidemia (89% vrs 59%) .<sup>9</sup>

Hay diferentes tipos de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que pueden ser aplicados en el diagnóstico de la IFI.<sup>23-27</sup> De todas ellas, la más recomendable es la PCR en tiempo real (PCR-TR). Este formato permite cuantificar el ADN presente en la muestra clínica, minimiza el riesgo de contaminaciones cruzadas y por tanto de falsos positivos, y permite el análisis una vez que se ha confirmado la amplificación del ADN (análisis de curvas de *melting*) que puede ser útil para llegar incluso a la identificación a nivel de especie. En el diseño de la PCR se puede optar por una detección universal o panfúngica, o bien por la detección exclusiva de un género concreto o incluso una única especie. Otro aspecto importante es contar con controles internos en la PCR para excluir la posibilidad de inhibiciones y por tanto de falsos negativos.<sup>27,29</sup>

La PCR ofrece varias ventajas para el diagnóstico de candidiasis invasiva, como su alta sensibilidad, su capacidad de rápida identificación y habilidad de cuantificar la carga fúngica. Durante las infecciones de torrente sanguíneo en humanos, se calcula que circulan menos de 10 UFC por ml de células de *Candida* y en al menos 25% de las infecciones se puede encontrar hasta 1UFC por ml. La baja sensibilidad de los hemocultivos refleja esta baja carga de células fúngicas en sangre, sobre todo en etapas tempranas de la infección, así como la naturaleza intermitente de la candidemia debido al aclaramiento hepático o liberación periódica de células fúngicas de los tejidos profundos hacia la circulación sanguínea.<sup>5</sup>

La PCR es más sensible que los hemocultivos porque está en su técnica amplifica las secuencias de DNA detectadas, en lugar de detección de células de *Candida* viables; sin embargo comparado con el cultivo, PCR tiene la desventaja que detecta DNA tanto de células viables como de células muertas así como partículas de DNA circulantes libres que pueden estar presentes aún después de que el patógeno ha sido aclarado de la circulación.<sup>5</sup>

Aunque las técnicas de PCR se han descrito y usado desde hace más de 15 años, con un amplio uso y utilidad diagnóstica en infecciones bacterianas y virales, sin embargo aun no está incluida en la definición diagnóstica de Candidiasis, esto principalmente por la falta de consenso en la técnica para su uso en las infecciones fúngicas.<sup>27</sup>

Las pruebas diagnósticas moleculares para la detección de DNA de *Candida* en sangre y tejidos, aún se continúan investigando, ya que su utilidad clínica está limitada por la falta de estandarización, alto costo y su habilidad para detectar un limitado número de especies de *Candida*. Un nuevo PCR-TR multiplex ha mostrado buen potencial para detección de candidemia e identificación de la especie de *Candida*, aunque su validación no ha sido realizada aún.<sup>26</sup>

Entre las distintas técnicas existentes, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) genera grandes esperanzas por su capacidad de amplificar pequeñas cantidades de ADN fúngico (entre 1 y 10 fg) en las muestras clínicas hasta concentraciones detectables. Por otro lado, son técnica versátiles ya que permiten la detección e identificación de una especie fúngica en concreto, empleando para ello como objetivo secuencias de ADN específicas de dicha especie (PCR específica) o bien la detección de múltiples especies, por ejemplo en un cribado diagnóstico

empleando como objetivo secuencias de regiones comunes del genoma presentes en hongos de diferentes géneros (PCR panfúngica).<sup>24</sup>

### **Tratamiento de CI:**

Con el fin de instaurar de forma temprana el tratamiento antifúngico, para reducir la alta mortalidad de la CI, se han diseñado diversas estrategias terapéuticas que incluyen la profilaxis, el tratamiento anticipado, el tratamiento empírico y el tratamiento dirigido.

Los estudios de vigilancia indican que casi todas las cepas de *Candida* que causan enfermedad invasiva son susceptibles a fluconazol y equinocandinas, los agentes antifúngicos usados más ampliamente.<sup>12</sup>

### **Profilaxis**

Dada las alta mortalidad de CI en pacientes con neutropenia y la baja sensibilidad de las pruebas diagnósticas, la profilaxis para pacientes de alto riesgo que han recibido quimioterapia de inducción a la remisión y trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (TCPH), es una estrategia casi universal. Las guías de IDSA de 2009 recomiendan profilaxis con fluconazol, pozaconazol y micafungina en pacientes con TCPH durante el periodo de riesgo para neutropenia. Esta estrategia también ha mostrado ser útil en pacientes con Enfermedad Injerto contra Huésped.<sup>12</sup>

### **Terapia anticipada**

El retraso en el inicio de la terapia antifúngica, mientras se espera resultado de hemocultivos tiene un impacto crítico en la mortalidad relacionada a *Candida*. Por esto todo paciente neutropénico con múltiples factores de riesgo clínicos para CI que desarrolla fiebre persistente o nuevo evento de fiebre que no responde a antibióticos de amplio espectro debe ser considerado para el inicio de terapia antifúngica empírica. En los últimos años se han introducido técnicas de imagen y pruebas diagnósticas serológicas que proveen evidencia adicional de CI, permitiendo así una terapia anticipada.<sup>26</sup>

En algunos estudios esta terapia empírica ha mostrado mejorar la sobre vida en pacientes recibiendo quimioterapia de inducción a la remisión.<sup>26</sup>

La terapia empírica racional requiere estratificar los riesgos basado en parámetros clínicos. Se han desarrollado escalas predictivas basadas en factores de riesgo, sitios de colonización por *Candida* y el apoyo de nuevos biomarcadores diagnósticos como el Mn.<sup>12</sup>

### **Tratamiento de CI documentada**

La opción de tratamiento a indicar en cada paciente debe basarse en la epidemiología local de las diferentes especies de *Candida*, datos de sensibilidad in vitro, historia de exposición reciente a azoles o intolerancia a agentes antifúngicos, gravedad de la enfermedad de base, comorbilidad relevante, posible interacción con otras drogas y la evidencia del órgano afectado (ojo, SNC, válvulas cardiacas o vísceras).<sup>26</sup>

## ANTECEDENTES

La infección fúngica invasiva (IFI) constituye una complicación frecuente de los pacientes pediátricos; representa una mayor morbilidad y mortalidad, así como un aumento importante en costos derivado del manejo hospitalario que requieren.

A pesar de que las IFI son relativamente frecuentes en estos pacientes (particularmente pacientes con estados de inmunocompromiso), estas infecciones son frecuentemente sub diagnosticadas. Un estudio postmortem de IFI en pacientes con neoplasias hematológicas identificó 31% de IFI por autopsias, de las cuales 75% no fueron diagnosticadas antemortem.<sup>28</sup>

Un estudio realizado por P. Badiee y cols. publicaron en 2011, para describir las infecciones fúngicas en pacientes ingresados en Unidades de Cuidados Intensivos, encontró una incidencia de infecciones fúngicas de 1.9%. Los factores de riesgo más importantes fueron el antecedente de accidentes y traumas, trasplante, tratamiento inmunosupresor. La mortalidad atribuible a candidemia en pacientes quemados se reporta de 14 a 70% en diferentes series.<sup>29</sup>

La colonización del tracto respiratorio y urinario por *Candida* es muy frecuente en pacientes con ventilación mecánica y sonda urinaria y se ha asociado a estancias prolongadas de hospitalización en UCI. La mortalidad reportada en este estudio fue de 58.8%. En este estudio la especie de *Candida* más frecuente fue *C. albicans*, el 17.1% de estas cepas tuvieron una sensibilidad disminuida a fluconazol.<sup>29</sup>

Santolaya y cols. realizaron un estudio multicéntrico prospectivo en 8 países para la vigilancia y descripción de candidemia en niños de Latinoamérica entre 2008 y 2010, encontrando incidencia de 0.81/1000 ingresos, 29% de los casos fueron neonatos, los factores de riesgo que mostraron asociación con candidemia fueron prematuridad, ingreso a UCI, nutrición parenteral, ventilación mecánica, neoplasia, neutropenia, enfermedad neurológica y uso previo de corticoides. Las especie de *Candida* aislada con mayor frecuencia fue *C. albicans*, seguida de *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*. Los factores predictores independientes de mortalidad a los 30 días fueron enfermedad renal y uso de corticoides.<sup>30</sup>

Las infecciones por *Candida* representan el 12% de las infecciones del torrente sanguíneo adquiridas en el hospital. La red de Vigilancia de las Infecciones Relacionadas a Trasplante recientemente publicó un estudio retrospectivo en pacientes trasplantados con infección fúngica invasiva de los años 2001 al 2006, encontrando una incidencia de Candidiasis Invasiva de 28% y la neutropenia estuvo presente en 59% de los pacientes con candidemia.<sup>31</sup>

En los estudios realizados previos a la introducción de las equinocandinas y el voriconazol en la terapia antifúngica, reportan mortalidad elevada en los pacientes oncológicos con candidemia, principalmente aquellos con neutropenia secundaria a quimioterapia. Esto no ha cambiado mucho en el tiempo, a pesar de estas nuevas medidas terapéuticas. El M.D Anderson Cancer Center reportó una mortalidad total a los 30 días de 38% en pacientes con malignidades hematológicas hasta 2007.<sup>32</sup>

La base de datos prospectiva de la Alianza de Terapia Antifúngica (PATH, por sus siglas en ingles), ha reportado desde 2004 a 2008 una mortalidad total a las 12 semanas de 35.2%.<sup>32</sup>

El Grupo Australiano de estudio de candidemia reporto una mortalidad de 40% en pacientes hematológicos. Los datos a nivel de pacientes, extraídos de siete ensayos aleatorios de tratamiento de CI, mostraron que la mortalidad general entre 1,831 pacientes a los 30 días, fue de 31.9%.<sup>32</sup>

Stamos y Rowley estudian sepsis por *Candida* en 70 niños y detectan una mortalidad del 19%, observando que fallecieron el 36% de los pacientes en los que no se retiró el catéter en los 3 primeros días mientras que no murió ninguno de los pacientes cuando el catéter se retiró en las primeras 72 horas.<sup>22</sup>

El estudio multicéntrico EPIC II mostró una prevalencia de 6.9 x 1000 pacientes ingresados en UCI y una mortalidad cruda de 43%, solo un tercio de los pacientes con candidemia demostrada presentó datos clínicos de infección severa, aunque su mortalidad mostró ser mayor que en bacteriemias por cocos gran positivos o bacilos gran negativos.<sup>33</sup>

Datos colectados de SENTRY, Programa de Vigilancia Antimicrobiana, muestra que 44.5% de los episodios de candidemia ocurren en la UCI, y que 5% de los aislamientos fueron resistentes a fluconazol. La infección grave por *Candida* se puede encontrar en todos los tipos de pacientes, pero afecta principalmente a pacientes con comorbilidades y críticamente enfermos.<sup>33</sup>

Bassetti y cols. realizaron un estudio en pacientes ingresados en UCI con diagnóstico de choque séptico adjudicado a una infección del torrente sanguíneo por *Candida*, reportando una mortalidad de 53.7% en los primeros 30 días del inicio de la candidemia, siendo el retraso en el inicio del tratamiento y el fracaso en controlar la fuente de la infección, fueron los factores más asociados a esta mortalidad.<sup>34</sup>

Oeser Clarissa y cols. describen un estudio de la epidemiología de candidemia en la población pediátrica de Inglaterra durante los años 2000 a 2009, encontrando 1473 casos, la incidencia incremento durante esta década, desde 1.04/ 100,000 en el 2000 a 1.53/100,000 en 2009. Las especies de *Candida* se presentaron en 89% de los casos, siendo las especies más frecuentes *C. albicans* y *C. parapsilosis*.<sup>22</sup>

Coto Cotallo y cols. realizaron en España un estudio multicéntrico para describir estas infecciones en neonatos, reportando una incidencia general de 0.57% de los ingresos, que incrementa de 2-5% en los recién nacidos de muy bajo peso al nacer (RNMBPN).<sup>22</sup>

En el 2002 el grupo de trabajo de EORTC/MSG propuso una serie de definiciones para clasificar a la IFI, con el fin de facilitar la identificación de grupos de pacientes razonablemente homogéneos para la investigación clínica y epidemiológica, para ayudar en el diseño de ensayos clínicos aleatorizados, para evaluar nuevos fármacos y estrategias de manejo y para fomentar una adecuada comunicación entre investigadores internacionales.<sup>7,8</sup>

El mayor problema de todas estas técnicas radica en la falta de estandarización de los métodos empleados. El principal objetivo que se persigue en la actualidad es la obtención de una prueba validada y estandarizada que permita el diagnóstico de IFI. Sin embargo, todavía no se han realizado estudios suficientes como para respaldar la utilidad clínica de estas técnicas, por lo que aún la detección de AN no ha sido incluida como biomarcador de micosis invasora en las definiciones de EORTC/MSG o de laECIL3.<sup>26</sup>

En 2009, la tercera conferencia Europea de Infecciones en Leucemia (ECIL-3) tuvo como objetivo establecer recomendaciones basadas en evidencia para el uso de marcadores biológicos, particularmente en pacientes con malignidades hematológicas y sólidas, usando el sistema de clasificación de salud pública de la IDSA.<sup>26</sup>

En el 2012 la Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (ESCMID por sus siglas en inglés: European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases), publicó una guía para el diagnóstico y manejo de las infecciones por *Candida*. Ellos adoptaron un sistema para graduar la calidad de la evidencia sobre la precisión de los procedimientos para la detección de biomarcadores en el diagnóstico de la candidiasis. Este sistema de clasificación se divide en: muy recomendable (la técnica es precisa en más del 70% de los casos), recomendable (la técnica es precisa entre 50% y 70% de los casos) y no recomendable (la técnica es precisa en menos del 50% de los casos).<sup>34</sup>

Oliveri S. y cols. en un estudio sobre la utilidad de la detección de antígeno Mn en lactantes prematuros demostró una sensibilidad de 92% y especificidad de 85%. Siendo este positivo en la mitad de los pacientes desde 4 días antes de la detección por cultivo. Se puede detectar falsos negativos en esta prueba como resultado del rápido aclaramiento del Mn del torrente sanguíneo o a infección por *C. parapsilosis* ya que esta especie libera muy bajos niveles de Mn en comparación con *C. albicans*. Pueden resultar falsos positivos en presencia de niveles de ganma globulina humana >60g/L, anticuerpos contra toxoplasmosis y reacción cruzada con otras especies de hongos.<sup>21</sup>

Arendrup y cols. reportaron una sensibilidad y especificidad para antígeno Mn de 100% y 74% respectivamente, con VPP de 80% y VPN de 100%.<sup>23</sup>

En una revisión sistemática realizada por Mikulska y colaboradores se evaluó la sensibilidad, especificidad y razones de probabilidad de la detección de Mn y A-Mn en suero, en pacientes con CI según los criterios del grupo de estudio de EORTC/MSG.<sup>17</sup> Se revisaron 14 estudios que comprendían 453 pacientes y 767 controles. La población de estudio incluía pacientes con cáncer, pacientes en unidades de cuidados intensivos y pacientes postquirúrgicos. Todos los estudios excepto uno, eran de diseño retrospectivo. La sensibilidad del Mn fue del 58% (IC 95%, 53-62), especificidad del 93% (IC 95% 91-94) y la razón de probabilidad diagnóstica (RPD) 18% (IC 95%, 12-28) (figura 1). La sensibilidad de A-Mn fue 59% (IC 95%, 54-65), especificidad 83% (IC95%, 79-97) y RPD 12% (IC 95% 7-21). La sensibilidad combinada de Mn/A-Mn combinado fue del 83% (IC 95%, 79-87), especificidad del 86% (IC 95%, 82-90) y RPD 58% (IC 95% 27-122) (figura 2). Se detectó una heterogeneidad significativa de los estudios. La sensibilidad tanto del Mn y A-Mn varió para diferentes especies de *Candida*, siendo más alta para *C. albicans*, seguida

de *C. glabrata* y *C. tropicalis*. En el 73% de 45 pacientes con candidemia, al menos una de las pruebas serológicas fue positiva antes que los cultivos. De 21 pacientes con CI hepatoesplénica, 18 (86%) tenían Mn o A-Mn positivos con una ventaja media de 16 días antes de las manifestaciones radiológicas.<sup>36</sup>

Los estudios de CI han demostrado que un retraso de 12 a 48 horas en la administración de tratamiento antifúngico adecuado se asocia con un incremento significativo de la mortalidad independiente de otros factores de riesgo. A pesar de esto, en el diagnóstico de CI hace falta herramientas diagnósticas sensibles y rápidas, por lo que se han desarrollado métodos no basados en cultivos como la detección de ADN por PCR como apoyo diagnóstico, aunque aún no están ampliamente disponibles.<sup>12</sup>

Las diferencias en la susceptibilidad de las especies de *Candida* a agentes antifúngicos ha hecho que la identificación a nivel de especie sea importante para el manejo clínico de candidemia. Las pruebas moleculares no han sido aún estandarizadas o no están disponibles en la mayoría de los laboratorios clínicos, aunque estas pruebas pueden disminuir el tiempo que requiere la identificación de especie de *Candida*. comparado con los métodos tradicionales de hemocultivos.<sup>35</sup>

En una revisión sistemática y meta análisis de Avni T. y cols. se analizaron 49 estudios de cohorte y casos controles en 4.694 pacientes (963 con candidiasis invasora probada o probable)demostrando una sensibilidad y especificidad para DNA – PCR de *Candida* de 100% cuando se compararon pacientes con candidemia con individuos saludables. Cuando se realizó PCR en pacientes con criterios de candidemia según criterios de EORT/MSG mostró sensibilidad de 95% y especificidad de 92%.<sup>5</sup>La sensibilidad y la especificidad eran máximas (100%) cuando se comparaban personas sanas y personas con candidiasis invasora. Estos valores se mantenían elevados (95 y 92%, respectivamente) en pacientes con sospecha de candidiasis invasora y la especificidad se mantenía por encima del 90% cuando se analizaba con diferentes grupos control. Los mejores datos se obtenían cuando la muestra era sangre completa, la diana de amplificación los genes del ARNr o del P450, siendo el límite de detección de ADN≤10 UFC/ml. Además, en los pacientes con candidiasis invasora probada o probable, la detección de ADN era positiva entre el 78 y el 91% (media, 85%) mientras que el crecimiento de *Candida* en hemocultivo variaba entre el 29 y el 46% (media, 38%).<sup>5</sup>

Los autores de este trabajo subrayan claramente la falta de sensibilidad del hemocultivo para el diagnóstico de candidemia y han demostrado que la PCR tiene una sensibilidad y especificidad aceptable para el diagnóstico de CI y que sus resultados además, muchas veces preceden la detección de candidemia por hemocultivos y que la persistencia de una prueba de PCR positiva se asocia a mortalidad.<sup>25</sup>

La técnica basada en PCR para la detección de *Candida* ha mostrado similares resultados en niños y adultos, con sensibilidad cerca del 100%, especificidad de 60-90%, VPN entre 88% y 100%, con variable VPP, probando que estos estudios son más eficaces para excluir que para confirmar el diagnóstico.<sup>23</sup>

Trovato L y cols. publicaron en 2012 un estudio en 86 niños con CI, en el cual la PCR tuvo una sensibilidad de 88% y especificidad de 90%.<sup>12</sup>

Mokaddas Eiman y cols. evaluaron el desempeño de antígeno Mn, 1-3  $\beta$ -D-glucano (BDG) y PCR DNA de *Candida* en pacientes pediátricos con cáncer colonizados por *Candida*, reportando que en 6 pacientes se detectaron niveles altos de BDG, mientras que no se detectó en ninguno de los pacientes sueros positivos para Mn ni DNA por PCR, lo que demuestra que estos dos últimos estudios pueden ser útiles en el diagnóstico de candidemia, sobre todo para descartarlo en aquellos pacientes con factores de riesgo pero sin sospecha clínica, a pesar de estar colonizados.<sup>37</sup>

Kenji Uno y cols. realizaron un estudio para comparar los diferentes métodos diagnósticos para CI en modelo en ratones, encontrando que las mediciones séricas del antígeno Mn es una herramienta sensible para la predicción temprana de candidemia en los ratones estudiados, identificándose en solo 6.5 días posteriores a la inoculación, mientras que PCR fue positivo hasta el día 8 en más de 50% de los pacientes al igual que el hemocultivo, siendo la identificación del 100% en el día 9 después de la inoculación. El antígeno Mn tiene la desventaja que no ofrece información sobre la especie de *Candida* involucrada, mientras la PCR tiene la ventaja de ofrecer identificación de especie más pronto que el cultivo, en 48 horas contra 4 a 7 días. Por lo que se recomienda el uso combinado de ambos métodos en el diagnóstico temprano de candidemia, los cuales deben ser confirmados mediante las técnicas convencionales como el hemocultivo, con todo y sus limitaciones.<sup>24</sup>

Fasahat F. Alam y cols. compararon la utilidad de la detección de antígeno Mn y PCR para diagnóstico de candidemia en pacientes con candidemia probada por cultivos, pacientes con sospecha clínica de candidemia, individuos colonizados y un grupo control sano, encontrando para Mn sensibilidad de 41% y PCR 88% con especificidad de 100% para Mn. También se demostró que la combinación de dos o más de estas pruebas diagnósticas incluyendo 1-3  $\beta$ -D-glucano, anticuerpos anti-Mn y hemocultivo, incrementa la confiabilidad y certeza diagnóstica, convirtiéndose en una recomendación para el apoyo diagnóstico en aquellos pacientes identificados con sospecha de infección fúngica.<sup>38</sup>

## PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La candidiasis invasiva es causa importante de morbi-mortalidad en pacientes pediátricos. El diagnóstico basado en los hallazgos clínicos, estudios de imagen y cultivos es tardío. Estudios demuestran de manera consistente que una demora de 12 a 48 horas en la administración de una terapia antifúngica adecuada, se asocia con un aumento significativo en la mortalidad; el cual es independiente de otros factores de riesgo para el mismo desenlace. Por otro lado, el uso de una terapia antifúngica empírica (con azoles o polienos) es frecuente en pacientes de alto riesgo, lo que puede resultar en sobre tratamiento a estos pacientes, conduciendo a un incremento en la emergencia de cepas de *Candida* resistentes a antifúngicos, eventos adversos relacionados al medicamento y un incremento en costos.

Recientemente se han introducido técnicas no basadas en cultivos para el diagnóstico de la Candidiasis Invasiva (CI); tales como el Manano (Mn) y métodos basados en la detección de ADN por medio de PCR-TR, los cuales proporcionan resultados en un menor tiempo, y por ende podrían facilitar la toma de decisiones en cuanto al tratamiento, de una manera más pronta y oportuna. La información sobre la correlación de estos biomarcadores con la presentación clínica de la CI en población pediátrica es limitada, la mayoría de los estudios se basan en pacientes oncológicos, por lo que se hace necesario generar evidencia de este aspecto en nuestro medio y en los pacientes pediátricos de alto riesgo, no únicamente en el grupo de pacientes oncológicos.

## PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la correlación clínica entre el antígeno Manano y la PCR-TR para *Candida* en el diagnóstico de candidiasis invasiva en pacientes pediátricos ingresados en el Hospital Infantil de México Federico Gómez en el periodo Agosto 2014 – Mayo 2015?

## JUSTIFICACIÓN

Históricamente, la CI ha sido difícil de diagnosticar. Los cultivos y los hallazgos histológicos a menudo son falsamente negativos o son positivos en el curso tardío de la infección, haciendo subóptima la administración de una terapia antifúngica efectiva.

Los estudios basados en biomarcadores de la pared de *Candida* se han desarrollado para ayudar al diagnóstico de CI. Estos ofrecen la ventaja de ser fáciles y seguros de utilizar, evitan procedimientos diagnósticos invasivos y realizan un diagnóstico oportuno. La adopción de estos estudios de biomarcadores está cambiando el enfoque del diagnóstico de la CI. En la última década se observan mejores tasas de supervivencia en pacientes adultos con cáncer y TCPH con CI, esto en parte favorecido por un diagnóstico certero más temprano, sin embargo no existe información suficiente de estas pruebas en la población pediátrica.<sup>16</sup>

Por lo anterior es necesario evaluar la correlación clínica y utilidad de estos biomarcadores para el diagnóstico de CI ya que al realizar un diagnóstico oportuno, se podría disminuir la morbilidad de los pacientes pediátricos de alto riesgo, así como disminuir el sobre tratamiento de estas infecciones, la resistencia a agentes antifúngicos y los costos económicos que todo esto lleva consigo.

# OBJETIVOS

## OBJETIVO GENERAL

Correlacionar las características clínico-epidemiológicas, con el Mn, y PCR-TR para *Candida* en el diagnóstico de CI en pacientes pediátrico.

## OBJETIVOS PARTICULARES

- Determinar la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos de Mn y PCR-TR para *Candida*.
- Comparar mediante curvas ROC los diferentes puntos de corte del Mn para determinar su capacidad diagnóstica de CI.

## HIPÓTESIS

Los niveles de Mn y la PCR-TR para *Candida*, tendrán una correlación con las características clínico-epidemiológicas de los pacientes pediátricos con candidiasis invasiva.

# MÉTODOS

## Diseño del Estudio

Estudio prospectivo, longitudinal, analítico, de prueba diagnóstica.

## Lugar de estudio

Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG)

## Periodo de estudio

1 de agosto de 2014 al 31 de mayo 2015.

## Población de estudio

Pacientes pediátricos hospitalizados en el HIMFG

## Criterios de inclusión

- Pacientes entre 0 y 18 años de edad.
- Pacientes con sospecha clínica de candidemia.

Se define sospecha clínica de candidemia en pacientes que a pesar de 4 días de tratamiento antibiótico de amplio espectro<sup>a</sup> presente **fiebre o hipotermia**, más al menos uno de los siguientes factores de riesgo:

### FACTORES DE RIESGO PARA CANDIDIASIS INVASIVA

1. Inmunocomprometidos<sup>b</sup>
2. Neutropenia reciente (RAN  $<500\text{mm}^3$ ) por  $>10$  días
3. TCPH reciente ( $<30$  días).
4. Hospitalización prolongada ( $>2$  semanas)
5. Presencia de catéter venoso central
6. Procedimiento quirúrgico mayor reciente
7. Esteroides a dosis de  $2\text{mg/kg/día}$  o  $60\text{mg/día}$  por  $>1$  semana
8. RNPT con  $<1500\text{g}$  de peso
9. Tratamiento con inmunosupresores de células T: ciclosporina, bloqueadores del FNT alfa, alentuzumab o análogos nucleósidos, durante los 90 días previos.
10. Inmunodeficiencia primaria grave (como enfermedad granulomatosa crónica o inmunodeficiencia combinada grave)

<sup>a</sup>Antibióticos de amplio espectro: cefalosporinas de 4ta. generación o carbapenémicos.

<sup>b</sup>Inmunocomprometidos: Pacientes oncológicos, trasplantados de órganos sólidos, pacientes reumatológicos que estén bajo tratamiento inmunomodulador.

Abreviaturas: RAN: Recuento absoluto de neutrófilos, TCPH: trasplante de células progenitoras hematopoyéticas, RNPT: Recién nacido pretérmino, FNT: Factor de necrosis tumoral.

- Pacientes cuyos tutores/cuidadores aceptaron participar en el estudio mediante la firma del consentimiento informado y asentimiento.

#### **Criterios de exclusión**

- Pacientes que hayan recibido tratamiento antifúngico 2 semanas previas al protocolo o que estén recibiendo profilaxis antifúngica.

#### **Criterios de eliminación**

- Pacientes de los que no se tengan ambas muestras de laboratorio
- Pacientes con información incompleta

#### **Cálculo del tamaño de muestra**

Se realizará un muestreo por conveniencia. Se incluirán a todos los pacientes que cumplan los criterios de inclusión de Agosto del 2014 a mayo del 2015.

#### **Descripción de la metodología**

Previo al inicio de la captura de sujetos se estandarizó la técnica de realización de la PCR-TR para *Candida*. Se realizó la prueba con 10 pacientes conocidos (5 con diagnóstico de CI y 5 sin diagnóstico de CI).

Se reclutó aquellos pacientes con sospecha de infección fúngica en quienes se cumplían los criterios de inclusión y se invitó a los familiares, ya que en ningún caso fue posible al paciente, a participar en el estudio. Quienes aceptaron firmaron las cartas de consentimiento informado y/o asentimiento.

Una vez que el paciente ingresó al estudio se tomaron del expediente las variables demográficas y las características clínicas. Se realizó la toma de 1ml de sangre en un tubo seco para realizar el Mn y para la PCR-TR se tomó 1 mL de sangre total en un tubo con anticoagulante (tapón morado) que se entrega y procesa en las áreas respectivas del laboratorio.

Como parte del abordaje clínico en un paciente con probable CI se tomaron muestra de orina para hemocultivos y urocultivo de hongos y en caso necesario cultivos de secreciones y material estéril en algunos casos.

Se hizo seguimiento de los pacientes hasta conocer el desenlace de la infección.

Se generó un constructo llamado “Sospecha clínica de Candidemia” basado en las características clínicas de los pacientes y los factores de riesgo citados y probados en la literatura para candidiasis invasiva, el cual será sometido a comparación con los resultados de ambas pruebas de laboratorio, tomando en cuenta el desenlace del paciente y su respuesta clínica al tratamiento antifúngico.

Se consideró Sospecha clínica de Candidemia” aquellos pacientes que cumplieran con todos los siguientes puntos:

1. fiebre por más de 4 días
2. Antibióticos de amplio espectro por más de 4 días
3. 1 o más de los factores de riesgo para CI
4. Con o sin hemocultivo positivo

5. Evidencia de mejoría clínica con el inicio de tratamiento antifúngico.

### **Análisis estadístico**

Se realizó estadística descriptiva: para las variables en escala continua se calcularon medidas de tendencia central o medidas de posición según la distribución que presenten.

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

Se calculó sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativos y razones de verosimilitud positivas y negativas de ambas pruebas de laboratorio.

Se utilizó el paquete informático IBM SPSS Statistics® Versión 21.0 y Stata Versión 13.

### **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

Se trata de un estudio con riesgo mayor al mínimo, sin embargo el volumen total a extraer durante todo el estudio no será mayor al 10% del volumen circulante. Los eventos adversos serán evaluados y resueltos en el HIMFG. Se solicitará el consentimiento informado por escrito al cuidador primario y carta de asentimiento del menor en aquellos pacientes  $\geq$  de 8 años de edad con capacidad de hacerlo. (Anexo 1 y 2).

## DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

Definición Conceptual	Definición Operativa	Tipo de variable	Escala de medición
<b>Edad</b>	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento, en meses y años.	Cuantitativa, continua	Meses/ años
<b>Sexo</b>	Características fenotípicas que clasifican a un individuo como hombre o mujer.	Cualitativa, dicotómica.	Femenino /Masculino
<b>Diagnóstico de base.</b>	Diagnósticos crónicos previos al evento infeccioso agudo.	Cualitativa, politómica.	Nombre de la enfermedad
<b>Diagnóstico infeccioso.</b>	Condiciones clínicas de origen probablemente infeccioso, al momento de la sospecha de candidiasis.	Cualitativa, politómica.	Nombre de la enfermedad infecciosa
<b>Sala de hospitalización.</b>	Unidad del Hospital Infantil de México Federico Gómez en la que se encontraba hospitalizado el paciente al momento de la sospecha de candidiasis.	Cualitativa, politómica.	Nombre de la sala
<b>Fiebre.</b>	Temperatura mayor o igual a 38°C por al menos una hora o determinación aislada de temperatura mayor o igual a 38.3°C documentada en los registros de enfermería.	Cualitativa, dicotómica.	Medida de temperatura en grados Celcius
<b>Hipotensión</b>	Cifras de tensión arterial por debajo de la percentila 5 para la edad documentadas en los registros de enfermería.	Cualitativa, dicotómica.	Cifras de Tensión arterial en Hgmm
<b>Antibióticos en las 2 semanas previas.</b>	Número de fármacos antimicrobianos distintos, administrados en los 21 días previos a la sospecha de candidemia, de acuerdo a lo registrado en el expediente clínico.	Cuantitativa, discreta.	Si/No
<b>Estancia hospitalaria mayor a 2 semanas.</b>	2 semanas o más transcurridos desde el ingreso al Hospital Infantil de México Federico Gómez hasta el momento de la sospecha de candidemia.	Cuantitativa, discreta.	Medida en días.
<b>Presencia de dispositivos invasivos</b>	Presencia de dispositivos médicos invasivos en el paciente al momento de la sospecha de Candidemia o en las 2 semanas previas.	Cualitativa politómica	Medida en días
<b>Ventilación mecánica.</b>	Ventilación a través de cánula orotraqueal al momento de la sospecha de candidemia o en las 2 semanas previas.	Cualitativa, dicotómica.	Si/no

<b>Estancia en la terapia intensiva.</b>	Hospitalización en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos del Hospital Infantil de México al momento del diagnóstico o en los 14 días previos.	Cualitativa, dicotómica.	Si/no
<b>Nutrición parenteral.</b>	Administración intravenosa de nutrición parenteral al momento de la sospecha de candidemia o en los 14 días previos.	Cualitativa, dicotómica.	Si/no
<b>Cirugía mayor en las dos semanas previas</b>	Realización de procedimiento quirúrgico con necesidad de anestesia general o regional en los 14 días previos a la sospecha de candidemia.	Cualitativa, dicotómica.	Si/no
<b>Quimioterapia</b>	Administración de fármacos citotóxicos para tratamiento de alguna neoplasia maligna en los 30 días previos a la sospecha de candidemia.	Cualitativa, dicotómica.	Si/no
<b>Inmunosupresores</b>	Administración de fármacos que atenúan de manera significativa la función del sistema inmune (excepto glucocorticoides) en las 2 semanas previas a la sospecha de candidemia.	Cualitativa, dicotómica.	Si/no
Infección fúngica invasiva Probada	Se requiere al menos de un criterio: a) Análisis microscópico: Material estéril Examen histopatológico, citopatológico o por examen directo al microscopio, de una muestra obtenida por aspiración con aguja o biopsia, de un sitio normalmente estéril (exceptuando membranas mucosas), en el que se observen pseudohifas o hifas verdaderas. b) Cultivos Hemocultivo con desarrollo de levaduras O Crecimiento de levaduras en un cultivo de muestra obtenida a través de un procedimiento estéril (incluyendo material para drenaje con <24hrs de colocación), de un sitio normalmente estéril que muestra una anormalidad clínica o radiológica compatible con un proceso infeccioso.	Cualitativa nominal	Presente/ ausente
Infección fúngica invasiva Probable	Se requiere al menos un factor de cada rubro: a) <b>Factores del hospedero:</b> - Historia de neutropenia reciente (RAN <500mm <sup>3</sup> ) por >10 días - TCPH reciente	Cualitativa nominal	Presente/ ausente

	<p>- Uso prolongado de corticoesteroides a una dosis mínima de 0.3mg/kg/día de prednisona por &gt;3 semanas</p> <p>- Tratamiento con otros inmunosupresores de células T como: ciclosporina, bloqueadores del FNT alfa, alentuzumab o análogos nucleósidos, durante los 90 días previos.</p> <p>- Inmunodeficiencia primaria grave (como enfermedad granulomatosa crónica o inmunodeficiencia combinada grave</p> <p><b>b) Criterios clínicos</b>  Por lo menos 1 de las siguientes 2 entidades, presentándose después de un episodio de candidemia en las 2 semanas previas:</p> <p>- Lesiones pequeñas con imagen de tiro al blanco (lesiones en ojo de buey), presentes en hígado o bazo.</p> <p>- Exudados retinianos progresivos, evidenciados durante una examinación oftalmológica</p> <p><b>c) Criterios microbiológicos</b>  - Detección de <math>\beta</math>-1,3-D-glucano en suero</p>		
Infección fúngica invasiva Posible	Se requiere la presencia de al menos un factor del hospedero y un criterio clínico en ausencia de criterio microbiológico.	Cualitativa nominal	Presente/ausente
Manano	Detección en suero de antígeno manano	Cuantitativa continua	pg/ml
$\beta$ -1,3-D-glucano	Detección en suero de $\beta$ -1,3-D-glucano	Cuantitativa continua	pg/ml
PCR para <i>Candida</i> en tiempo real	Detección del ADN de una fracción conservada de <i>Candida</i> en sangre periférica	Cualitativa nominal	Presente/ausente

**Variables confusoras:**

- administración de albúmina e inmunoglobulina
- pacientes dializados

## RESULTADOS

Se incluyeron 106 pacientes que cumplían los criterios de inclusión y se excluyeron 12 pacientes: 8 por datos incompletos y 4 por haber recibido profilaxis antifúngica, quedando 84 individuos para incluir en el análisis.

De estos 84 pacientes incluidos en el análisis, 47% (43/84) eran del sexo femenino y 53% (48/84) del sexo masculino, con una edad media de 4 años (rango de 1 mes a 18 años), 9 de ellos eran previos sanos, 3 eran recién nacidos sin patología subyacente y los restantes 72 presentaban algún padecimiento de base. El grupo de pacientes que predominó fueron los oncológicos con 40.4% (34/84). El diagnóstico más frecuente fue leucemia linfoblástica aguda (LLA), seguido de cardiopatías congénitas (18/84), post-quirúrgicos (8/84), genopatías (5/84) y hepatopatías (2/84).

Las principales áreas del hospital donde se encontraron distribuidos los pacientes fueron: 39.2% (33/84) se encontraban en las salas de terapia intensiva al momento del ingreso al estudio (UTIP 14/84, UTIQ 10/84, UCIN 9/84), 22% (20/84) en la sala de oncología y 8.8% se el servicio de urgencias. Con menor frecuencia, todos los demás servicios del hospital tuvieron por lo menos un paciente en el protocolo.

El diagnóstico infeccioso más frecuente fue sepsis nosocomial en 41.6% (35/84) de los pacientes, seguido de neumonía nosocomial 14.2% (12/84), choque séptico en 13% (11/84) y neutropenia febril en 11.9% (10/84). (Ver tabla No. 1)

Tabla. No.1

DIAGNOSTICO INFECCIOSO EN PACIENTES CON SOSPECHA DE INFECCION POR <i>CANDIDA</i>		
Diagnostico infeccioso	Frecuencia	Porcentaje
Celulitis	1	1.19
Choque séptico	15	17.85
Colangitis	1	1.19
Fiebre y Neutropenia	10	11.90
Infección de DVP	1	1.19
Mucositis	2	2.38
NAC grave	1	1.19
Neumonía nosocomial	12	14.28
OP apendicectomía	1	1.19
Pancreatitis	1	1.19
Sepsis abdominal	1	1.19
Sepsis comunitaria	1	1.19
Sepsis en paciente oncológico	2	2.38
Sepsis nosocomial	35	41.66

## Factores de Riesgo:

De los pacientes incluidos en el estudio 4.7% (4/84) eran recién nacidos pretérmino, 63.1% (53/84) habían estado ingresados por más de 2 semanas previas al ingreso al estudio, todos habían recibido antibióticos de amplio espectro previos, 85.7% de estos tenían algún dispositivo invasivo, 62% estaban bajo ventilación mecánica, 13% habían sido sometidos a una cirugía abdominal y 23.8% habían sido sometidos a otro tipo de cirugía mayor, 65.4% (55/84) estaban o habían estado ingresados en una Unidad de terapia intensiva, 34.5% recibió nutrición parenteral total previa o durante el evento infeccioso, 14.2% habían recibido corticoides previos al ingreso al estudio, 32.1% habían recibido quimioterapia. (Ver tabla No.1).

**Tabla No.1. Presencia de factores de riesgo para infección por *Candida* en la población estudiada.**

Factor de Riesgo	Frecuencia (n=84)	Porcentaje (%)
Neonato Prematuro	4	4.7%
Malignidad	34	40.4%
Neutropenia	26	31%
Ingreso UTIP/UCIN	55	65.4%
Dispositivos invasivos	72	85.7%
Ventilación mecánica	52	62%
Nutrición parenteral total	29	34.5%
Quimioterapia	27	32.1%
Corticoides/inmunosupresor	12	14.2%
Antibióticos previos	84	100%
Cirugía previa	31	36.8%
Estancia hospitalaria > 2 sem.	53	63.1%

De los antibióticos empleados en los pacientes previos al evento sospechoso de Candidemia fueron cefalosporinas de tercera generación en 10.6% (9/84), cefalosporina de cuarta generación en 47.6% (40/84), Meropenem en 26.1% (22/84), Piperacilina/Tazobactam en 13.1% (11/84) y otros antibióticos en 2.38% (2/84). (Ver tabla No.2).

**Tabla No. 2. Antibióticos de amplio espectro utilizados previamente**

Antibiótico Previo	Frecuencia (n=84)	Porcentaje (%)
Cefotaxima	7	8.33
Ceftriaxona	2	2.38
Cefepima	40	47.62
Meropenem	22	26.19
Piperacilina/ Tazobactam	11	13.10
Otros	2	2.38

### Manifestaciones clínicas:

El 73.6% de los pacientes presentaron fiebre como dato clínico más frecuente, con rangos de temperaturas mínimas y máximas de 34 °C y 40 °C respectivamente. Se presentó hipotensión en 37.4% de los pacientes y se integró choque séptico en 34.1% del total de individuos incluidos en el estudio.

### Datos de laboratorio:

Con respecto a los datos de laboratorio, se estudio el conteo de leucocitos totales, neutrófilos y plaquetas al ingreso al protocolo, encontrando una media de leucocitos de 10,732/mm<sup>3</sup>, con valores mínimos y máximos de 100/mm<sup>3</sup> y 44,000/mm<sup>3</sup> respectivamente. 31% (26/84) de los pacientes cursaron con neutropenia. La media en el valor de las plaquetas fue de 172,595/mm<sup>3</sup>, con mínimo de 7,000/mm<sup>3</sup> y máximo de 758,000/mm<sup>3</sup>. La trombocitopenia estuvo presente en 56% (47/84) de los pacientes. (Ver tabla No.3)

**Tabla No. 3. Resultados de laboratorio en los pacientes analizados**

Parámetro de Laboratorio	Valor medio (mm <sup>3</sup> )	Rango de resultados (mm <sup>3</sup> )
Leucocitos	10,732	100-44,000
Plaquetas	172,595	7000-758,000
	<b>Frecuencia (#)</b>	<b>Porcentaje (%)</b>
Neutropenia	26	31
Trombocitopenia	47	56

### Candidiasis Invasiva:

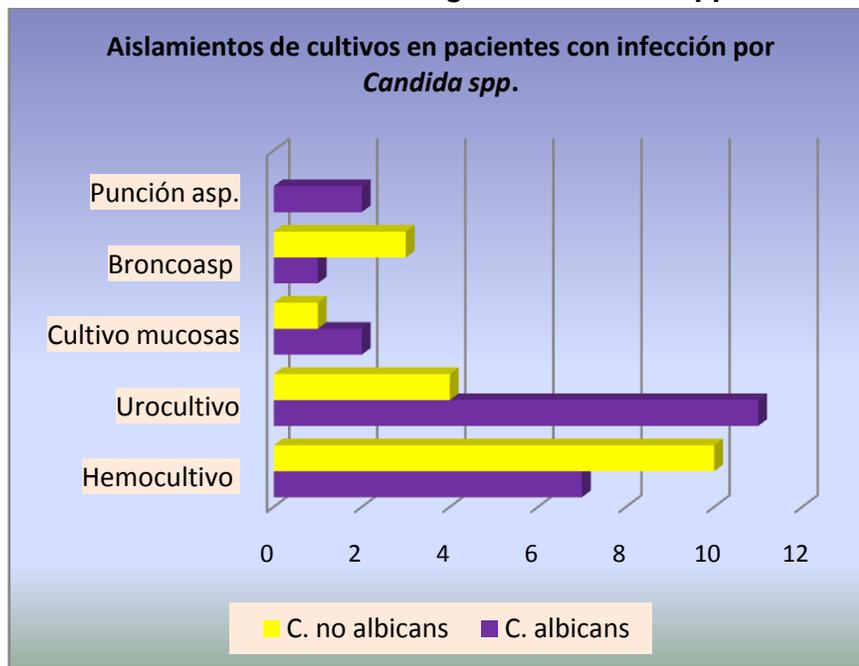
De acuerdo a resultados de cultivos, 27 pacientes tuvieron uno o más cultivos positivos, con 41 cultivos positivos en total, cumpliendo la definición de infección fúngica probada, de los cuales 41.4% fueron candidemia, seguida de candiduria con 38%, candidiasis mucocutánea en 14.6% y 7% de aspirado endotraqueal.

Se definió 32.1% (27/84) de los pacientes con candidiasis probada. Ningún paciente se clasificó como probable, ya que de acuerdo a los criterios que hemos tomado para el estudio

(EORTC/MSG) no se realizó 1-3  $\beta$ - D glucano por no contar con dicha prueba en nuestro laboratorio. Los pacientes restantes, 67.9% (57/84) se definen como Candidiasis posible.

De manera general *Candida albicans* se aisló en 23 muestras de diferentes fuentes, en 7 aislamientos provenientes de hemocultivos, 11 aislamientos de urocultivos, 2 aislamientos de muestras de mucosas de cavidad oral, 2 muestras obtenidas por punción aspiración y 1 de aspirado endotraqueal. Las especies de *Candida no albicans* se aislaron en total en 18 especímenes, con 10 de estos provenientes de hemocultivos, 4 aislamientos en urocultivo, 3 de aspirado endotraqueal y 1 de mucosa de cavidad oral. (Ver Grafico No.1) Las especies de *Candidas no albicans* aisladas fueron en orden de frecuencia *C. tropicalis* (12/18), *C.parapsilosis*(2/18), *C.glabrata* (1/18) y 3 especies solo fueron reportadas como *Candidas no albicans*.

**Gráfico No.1. Sitios de aislamiento microbiológico de *Candida spp.***



**Constructo: “Sospecha clínica de Infección por *Candida*”**

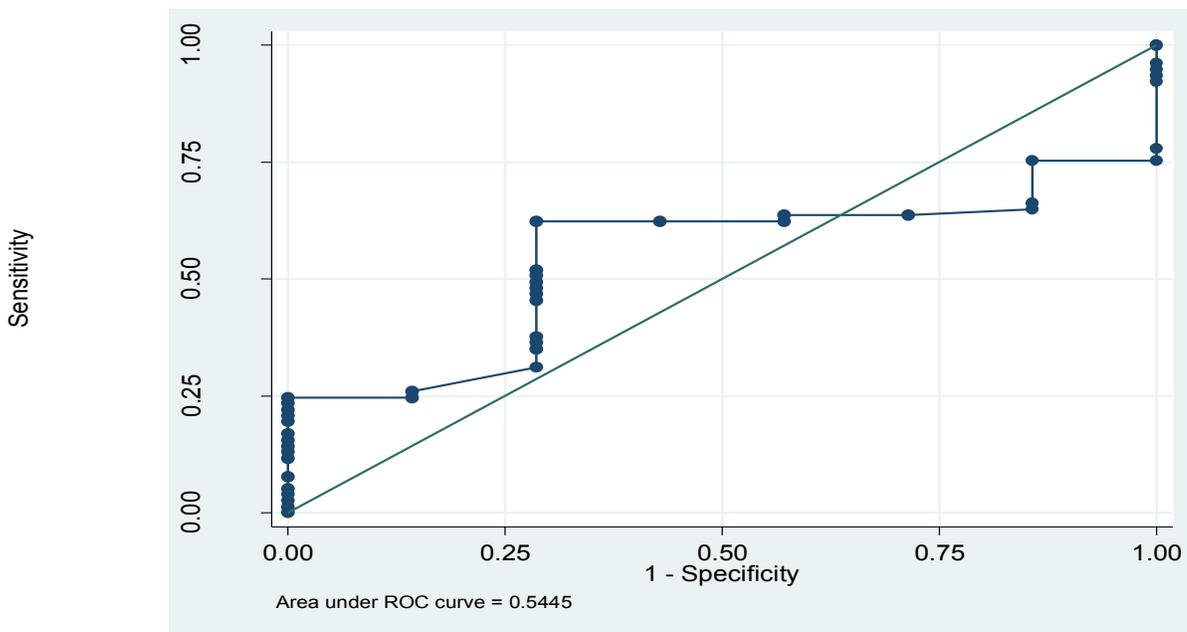
El 51.2% de los pacientes cumplieron con los criterios de “sospecha de infección por *Candida*” generados en este constructo. Todos estos pacientes mostraron respuesta clínica adecuada y desenlace favorable con la administración del tratamiento antimicótico, independiente de los resultados de las pruebas de laboratorio.

**Antígeno Manano como prueba diagnóstica:**

Los valores de esta prueba variaron de 0 a 682 pg/ml. El 30% (27/84) de los pacientes con sospecha de candidemia tuvo resultado de Antígeno Manano positivo. Entre los valores positivos, el valor promedio fue 335 pg/ml y de los valores negativos el promedio fue 37pg/ml.

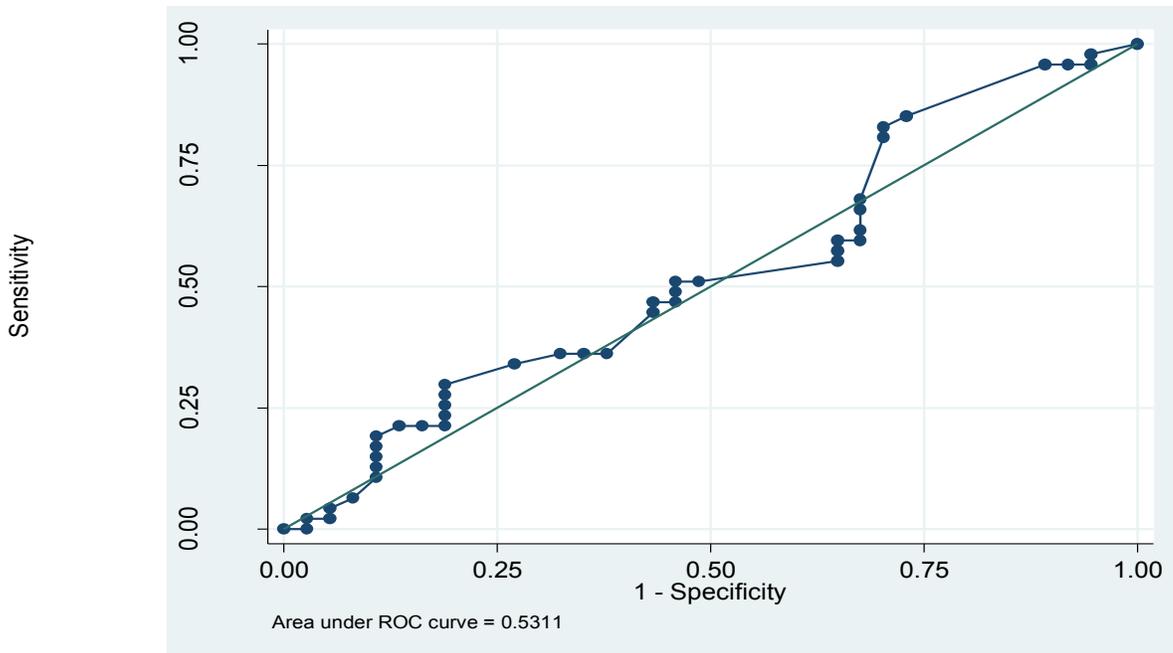
Se obtuvo la curva ROC (comparando el antígeno manano contra el hemocultivo) con un área bajo la curva de 0.54 (IC 95% 0.47 – 0.71). Tomando el punto de corte de 125 pg/ml, que es el que habitualmente se utiliza en nuestra Institución de acuerdo a la recomendación del fabricante, la sensibilidad es de 31.1% y la especificidad de 71.4%. (Ver gráfico No.1)

**Gráfico No. 2 Curva ROC de antígeno manano considerando fungemia como estándar de oro.**



Se realizó un segundo análisis tomando como estándar de oro el constructo clínico de “Sospecha de infección por *Candida*”. Se obtuvo una área bajo la curva de 53.1 (IC 95% 0.40 - 0.65) con una sensibilidad de 34% y una especificidad de 73%. (Ver gráfico No.3)

**Gráfico No. 3 Curva ROC de antígeno manano considerando el constructo “Sospecha clínica de infección por *candida*” como estándar de oro.**



La razón de verosimilitud negativa para la prueba fue de 0.90 y la razón de verosimilitud positiva fue de 1.09.

#### PCR como prueba diagnóstica:

Esta prueba fue positiva en el 19% de los pacientes (16/84). Cuando se tomó candidemia confirmada como estándar de oro, la prueba de PCR mostró una sensibilidad de 18.1% y especificidad de 71.4%, con Valor Predictivo Positivo (VPP) de 87.5% y un Valor Predictivo Negativo (VPN) de 7.3%. Las razones de verosimilitud negativa y positiva para esta prueba fueron 1.15 (IC 95% 0.71-1.85) y 0.64 (IC 95% 0.18- 2.25) respectivamente.

Al evaluar la prueba con el constructo de “Sospecha de infección por *Candida*” se obtuvo una sensibilidad de 19.1%, especificidad de 81.0%, VPP 56.2% y VPN de 44.1%. Las razones de verosimilitud negativa fue de 1.00 y las razones de verosimilitud positiva fue de 1.01. (Ver tabla No.4)

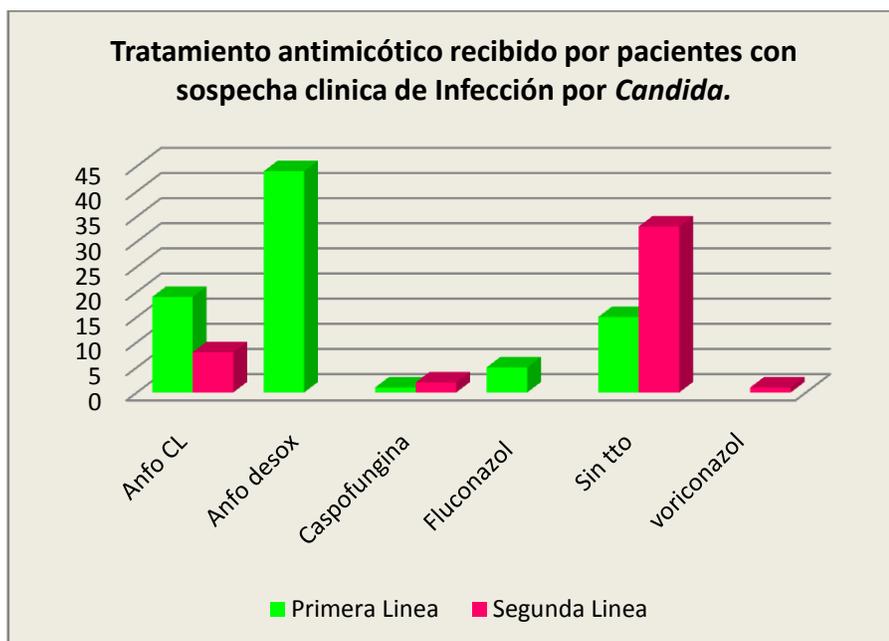
**Tabla No. 4. Frecuencias de los resultados obtenidos del antígeno manano de *Candida*, PCR para *Candida* y el Constructo clínico de sospecha clínica de infección por *Candida*.**

	POSITIVO		NEGATIVO	
	FREC.	%	FREC.	%
IFI PROBADA	27	32.1	57	67.9
ANTIGENO MANANO	27	32.1	57	67.9
PCR DE CANDIDA	16	19.04	68	80.95
CONSTRUCTO	41	48.8	43	51.2

### Tratamiento:

De todos los pacientes, 82.1% (69/84) recibió tratamiento antifúngico, de estos el 63.7% recibieron Anfotericina B desoxicolato, 27.5% recibió anfotericina de complejos lipídicos, 7.2% Fluconazol y 1.4% recibió Caspofungina como esquemas de primera línea. De estos 16.6% recibieron un segundo esquema antibiótico, se indicó Anfotericina B de Complejos lipídicos en 57.14% de los casos, Caspofungina 21.43%, Voriconazol 14.29% y Fluconazol 7.14%. (Ver gráfico No. 4)

**Gráfico No. 4.** Tratamiento antimicótico recibido por pacientes con sospecha clínica de infección por *Candida*.



### Desenlace:

En el 90% de los pacientes incluidos se documentó una resolución de la infección, mostrando adecuada respuesta clínica. 10 % fallecieron o sufrieron complicaciones no relacionadas a la infección fúngica. Solo en un caso se asoció la defunción a la infección fúngica.

## DISCUSIÓN

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

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

En el presente estudio se han identificado los pacientes con sospecha de Infección por *Candida* con base en los factores de riesgo ya ampliamente descritos en la literatura y algunas manifestaciones clínicas sugestivas que orientan al clínico en este sentido, a quienes se le realiza como parte del abordaje diagnóstico hemocultivos y cultivos de especímenes pertinentes a cada caso, así como nuevas técnicas diagnósticas para soportar esa sospecha diagnóstica de infección fúngica por *Candida*.

La mayoría de la literatura y estudios acerca de las infecciones fúngicas invasivas se han realizado a través del tiempo en poblaciones de pacientes oncológicos, por factores inherentes a su patología de base y tratamiento que reciben. En estos pacientes la incidencia de estas infecciones son particularmente más altas que en el resto de los pacientes pediátricos, así como la mortalidad. En nuestra población de análisis este fue el grupo de pacientes más frecuente, seguido de pacientes con cardiopatías, en estos y los demás grupos de pacientes la sospecha de infección fúngica se relacionó más a los factores de riesgo presentes, más que con su patología de base.

Se observó que los factores de riesgo que se documentaron en los pacientes del estudio en orden de frecuencia fueron: 1. El contar con dispositivos invasivos, esto ha sido descrito como un factor importante para el desarrollo de infecciones invasivas nosocomiales no solo de origen bacteriano, ya que en las últimas décadas ha quedado establecida la capacidad del género *Candida* para formar biopelículas en estos dispositivos que de manera evolutiva será capaz de generar candidemias periódicas y/o transitorias. En pacientes inmunocompetentes se ha observado una capacidad del sistema inmune para aclarar esta fungemia sin permitir el daño sistémico o su siembra en un órgano específico<sup>39</sup>, sin embargo esto no siempre es posible en pacientes con estados de inmunosupresión, principalmente aquellos con una disminución de la actividad o función de neutrófilos y macrófagos<sup>14</sup>. 2. Haber sido admitidos en una unidad de terapia intensiva, lo que en las últimas décadas se ha reportado como un factor importante, reportándose en el grupo de pacientes admitidos en terapia intensiva candidemia como la tercera y cuarta causa de infección del torrente sanguíneo<sup>40</sup>; esto se debe a la mayor sobrevivencia de los pacientes inmunocomprometidos, el uso de terapias avanzadas en este grupo de pacientes en estado grave, que en muchos casos implica el uso de dispositivos invasivos ya citados<sup>40</sup>. 3. Estancia hospitalaria mayor a 2 semanas, esto tiene relación con la exposición del paciente al medio hospitalario y equipo

colonizado, la presión antibiótica y los procedimientos y dispositivos invasivos nuevamente, este factor no ha mostrado una relación independiente en la incidencia de candidemia.<sup>11,14</sup> Tener apoyo ventilatorio invasivo se ha reportado como un factor independiente que incrementa el riesgo de candidemia e IFI en pacientes críticamente graves<sup>33,34,40</sup>, neoplasia como patología de base es un factor claramente descrito en el presente trabajo, lo que ha sido ya documentado por múltiples autores, demostrando además que en los pacientes oncológicos tanto la morbilidad como la mortalidad por candidemia es mayor que en cualquier otro grupo de riesgo, así como el pronóstico, que es más pobre para estos pacientes<sup>2,7,8</sup> las intervenciones quirúrgicas con una cirugía mayor ya sea abdominal u otro tipo, sobre todo en pacientes que ingresan a salas de terapia intensiva posterior al procedimiento, se han reportado en algunas series descriptivas como factores de riesgo para infección fúngica específicamente del género *Candida*<sup>41</sup> con incidencia de 9 a 10%, siendo la candidemia y la infección relacionada a CVC las infecciones más frecuentes en estos pacientes, lo que parece estar en relación no solo al procedimiento en sí, sino a la estancia en UTIP y los días de estancia hospitalaria debido a complicaciones por la cirugía.<sup>42</sup>

Dentro de los datos clínicos analizados se tomó en cuenta la fiebre o hipotermia, aunque es sabido que la presentación clínica de la infección fúngica es muy inespecífica y variable. En este estudio se observó fiebre en mayor frecuencia, la cual persistía o reaparecía a pesar del adecuado empleo de terapia antibiótica empírica de amplio espectro, lo que hacía sospechar la posibilidad de candidemia.

En los estudios que describen el cuadro clínico de infección por *Candida* este es inespecífico.<sup>25</sup> En un estudio de casos y controles realizado por Jordan y colaboradores señalan la presencia de fiebre en 43% de los pacientes con candidemia vs 29.8% en el grupo control<sup>44</sup>, la presentación clínica más comúnmente documentada en estos pacientes es sepsis y choque séptico, sus datos clínicos fueron muy similares a sepsis/choque séptico de etiología bacteriana. Un estudio reciente demostró que candidemia tiene el mismo comportamiento clínico que la bacteriemia por *S. aureus* y comúnmente se asocia a disfunción de uno o más órganos;<sup>32</sup> en este estudio se encontró poco más de una tercera parte con choque séptico que es lo que se ha reportado en la literatura. Esto es importante, ya que se ha reportado un incremento de la mortalidad de estos pacientes en relación a su estado de gravedad, alcanzando en casos de choque y falla orgánica múltiple una mortalidad entre 63-76%.<sup>4,14,34</sup>

Los datos de laboratorio, al igual que la sintomatología en la infección fúngica, son inespecíficos, en este estudio se observó neutropenia en una tercera parte de los pacientes y trombocitopenia en un poco más de la mitad de ellos, si bien es cierto la neutropenia ya se ha descrito como un factor de riesgo importante que incrementa la incidencia de estas infecciones, existen otros factores igual de importantes que incrementan el riesgo del paciente de cursar con candidemia en presencia o no de neutropenia. Se había asociado en algún momento la presencia de trombocitopenia con una probable infección por hongos en pacientes hospitalizados, sin embargo esto ya no es del todo cierto, pues en pacientes muy graves, con factores de riesgo la presencia de este dato puede deberse a múltiples causas, y su presencia tampoco incrementa el grado de sospecha de fungemia.<sup>11,24,32,41</sup>

En un tercio de los pacientes participantes del estudio se documentó por cultivo de muestra adecuada la presencia de infección por *Candidas*, de los cuales menos de la mitad fueron candidemias, esto corrobora todo lo que se ha descrito acerca de la baja sensibilidad y especificidad del cultivo como método diagnóstico confirmatorio de IFI. La especie más frecuentemente aislada fue *C. albicans*, pero no en la misma proporción que se ha descrito en la literatura, más bien se constata el incremento ya descrito de las especies *no albicans* y su papel importante en este tipo de infecciones, así, llama la atención que de acuerdo al tipo de infección, en candidemias predominaron las especies *no albicans* mientras en orina *C. albicans* fue la más frecuente, posiblemente como resultado de una colonización previa a través de sondas urinarias u otros dispositivos.

Con el fin de correlacionar la clínica con las pruebas diagnósticas a evaluar y en vista de la baja especificidad y sensibilidad del cultivo como estándar de oro en el diagnóstico de candidiasis invasiva, se generó un Constructo de sospecha clínica tomando en cuenta las características del paciente y del cuadro infeccioso actual y principalmente su respuesta clínica al tratamiento antimicótico instaurado de manera empírica ante esta sospecha, independientemente del resultado de los hemocultivos. A pesar de que todos los pacientes analizados habían cumplido los criterios de inclusión y por lo tanto de sospecha clínica de candidiasis, la mitad de ellos presentaron una evolución clínica adecuada con el tratamiento, aunque solo uno presentó complicación relacionada a la infección fúngica, los demás que fueron negativos al constructo se ubican en dos escenarios, pacientes en quienes no se inició terapia empírica pero evolucionó hacia la mejoría y pacientes que no cumplieron con todas las características clínicas que exigía el constructo.

Con respecto a los resultados de las pruebas de laboratorio a evaluarse, ambas pruebas (antígeno manano y PCR para *Candida*) mostraron baja sensibilidad (31%) y especificidad (71%) para el diagnóstico de infección por *Candida*. En el caso del antígeno manano los reportes han sido variables, algunos similares a lo reportado en el presente trabajo, Mayr Astrid y cols. reportan una sensibilidad y especificidad para el manano de 50% y 60% respectivamente, haciendo notar que estos valores pueden incrementar alrededor del 90% si se combina esta prueba con la detección de Anticuerpos anti-manano, o realizando la prueba de manano de manera seriada.<sup>27</sup> Estos datos pueden variar en dependencia del tipo de estudio que se use y del valor de corte tomado para el estudio. Usando la misma prueba comercial que hemos empleado en este trabajo, con los puntos de corte ya definidos, el estudio previo y otros como Mikulska M. y cols. reportan sensibilidad de 58% y especificidad de 93%.<sup>9</sup> Esto nos permite considerar que en nuestra población la prueba no es lo suficientemente confiable para la toma de decisiones terapéuticas en pacientes con sospecha de infección micótica.

Respecto al rendimiento inferior del antígeno manano en nuestra población, podríamos considerar como limitantes la heterogeneidad de la población (pacientes oncológicos, cardíopatas, genópatas, neonatos, pacientes en terapia intensiva, etc). En razón al tipo de población, se ha descrito que en pacientes oncológicos que reciben quimioterapia la incapacidad de montar una adecuada respuesta inmunológica puede disminuir la sensibilidad de dicha prueba. Por otro lado, desconocemos si el volumen sanguíneo extraído

para los hemocultivos fue el recomendado según la edad y peso del paciente. Esto podría generar una subestimación de la sensibilidad y especificidad si el volumen inadecuado de sangre condicionara un falso negativo del hemocultivo.

Los valores predictivos varían de acuerdo a la probabilidad pre-prueba de candidemia, por lo que es importante tomar en cuenta el tipo de población que se está estudiando, y los factores de riesgo específicos para candidemia. Ya que al no definir de manera estricta estos factores, o si se realiza la prueba a pacientes que no cumplen realmente con criterios para la sospecha de infección por *Candidas*, estos valores pierden exactitud. Otro punto a considerar respecto a los valores predictivos de la prueba es que se basan en la prevalencia de la enfermedad en la población estudiada y dado que la incidencia de candidemia corroborada por cultivo fue muy baja en nuestra población, estos valores deben tomarse con reserva.

En cuanto al punto de corte, el fabricante de la prueba (Platelia *Candida* Ag de Bio-Rad®) considera los valores de antígeno manano menores a 62.5 pg/ml como negativos, entre 62.5 y 125 pg/ml como intermedios, y aquellos mayores o iguales a 125 pg/ml equivalen a un resultado positivo de la prueba<sup>32</sup>. Sin embargo, algunos autores han empleado distintos puntos de corte para considerar la prueba positiva, usualmente entre 250 pg/ml y 500 pg/ml. De acuerdo a lo observado en las Curvas ROC obtenidas, al incrementar el punto de corte del resultado, sería posible, teóricamente, mejorar el rendimiento de la prueba, es algo que debe considerarse para la realización de estudios futuros en nuestro medio.

Actualmente el grupo de investigadores del EORTC/MSG no contemplan al manano de *Candida* dentro de los estudios de laboratorio que apoyen la sospecha de infección fúngica invasora. Nuestro estudio apoya la concepción de este grupo, ya que no generamos evidencia de que tenga una buena utilidad en nuestra población.

La PCR específica para *Candida* es una prueba que actualmente no se utiliza para decisiones clínicas y cuya aplicación durante el diagnóstico y tratamiento del paciente continúa en estudio. La gran mayoría de los estudios publicados sobre esta prueba se basan en reportes del rendimiento de la prueba diagnóstica comparada con otros métodos no basados en micología molecular.

En nuestro estudio la PCR para *Candida* demostró de la misma manera valores de sensibilidad muy bajos (13%), con niveles de especificidad apenas aceptables (71%), lo que difiere mucho con la literatura revisada, donde la prueba ha mostrado un desempeño muy bueno, prácticamente tanto en sensibilidad como especificidad arriba del 80%-85.% para ambas. Las razones de haber obtenido estos resultados pueden ser varias. En primer lugar la prueba se compara contra el estándar de oro (hemocultivo) que nos traduce una infección invasora por *Candida*, por lo que en las infecciones por *Candida* donde no hay diseminación hematológica, como una infección urinaria o una candidiasis orofaríngea, esperaríamos un resultado negativo aunque se tuviera corroborada la infección por *Candida*. Esto ocurrió en 24 pacientes. Por otro lado, la prueba de PCR que se utilizó fue una prueba cualitativa y aunque se describe que puede detectar mínimas cantidades del ADN del hongo, es posible que el umbral para reportar una prueba como positiva no se haya superado en algunas de las muestras enviadas al laboratorio.

Por último, otro factor importante es el hecho de que esta prueba no esté estandarizada en los laboratorios. Si bien, el personal que la realizó esta técnicamente capacitado para su ejecución, tendrían que reevaluarse algunos aspectos de la técnica para corroborar su adecuada realización.

## CONCLUSIONES

En el presente estudio se reportó sensibilidad y especificidad para el Antígeno manano de *Candida* de 31% y 71% respectivamente. El PCR de *Candida* mostró sensibilidad de 18.1% al tomar el hemocultivo como estándar de oro en el diagnóstico de candidemia y fue de 19.1% al tomar el Constructo clínico de "Sospecha de infección por *Candida* con especificidad de 71.4% y 81% en cada circunstancia respectivamente.

Con los valores obtenidos tanto el manano de *Candida* como la PCR para *Candida* no son pruebas útiles en nuestra población para detectar pacientes con infección invasora por *Candida*.

Dada la importancia que se ha demostrado en el inicio temprano de la terapia antimicótica en pacientes pediátricos y la necesidad de establecer un diagnóstico temprano de la infección para mejorar las estrategias de manejo y procurar esquemas dirigidos para evitar la resistencia creciente a los agentes antifúngicos, se hace necesario y urgente la evaluación e implementación de otras pruebas diagnósticas no basadas en cultivos (biomarcadores) que permitan alcanzar estas metas en nuestra población.

## BIBLIOGRAFIA

1. Papas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK, Calandra TF, et al. Clinical Practice Guidelines for the Management of Candidiasis: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. 2009; 48:503-35.
2. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, et al. Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clinical Infectious Diseases* 2008; 46:1813–21.
3. Pontón J. Utilidad de los marcadores biológicos en el diagnóstico de la candidiasis invasora. *Rev Iberoam Micol.* 2009;26(1):8-14.
4. Zaoutis TE, Kaufman DA, Sung L, Wiley J. Invasive fungal infections in pediatric patients: challenges to optimal management. *The Journal of Pediatrics.* 2010;156(4) S47- S86.
5. Avni T, Leibovici Paul M. PCR Diagnosis of Invasive Candidiasis: Systematic Review and Meta-Analysis. *J Clin Microbiol.* 2011;49(2): 665–670.
6. Aguado JM, Ruíz-Campos I, Muón P, Mensa J, Almirante B, et al. Recomendaciones sobre el tratamiento de la candidiasis invasiva y otras infecciones por levaduras de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Actualización 2011. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29(5):345–361.
7. De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, et al. Revised Definitions of Invasive Fungal Disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clinical Infectious Diseases* 2008; 46:1813–21.
8. Ascoglu S, Rex JH, de Pauw B, et al. Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants: an international consensus. *Clin Infect Dis* 2002; 34:7–14.
9. , Furfaro E, Viscoli C. Biomarkers for Diagnosis and Follow-Up of Invasive Candidiasis: A Brief Review of the ECIL Recommendations. *Curr Fungal Infect Rep* 2012; 6: 192-197.
10. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, Elsevier (7ª edición), pp. 3225-3240.
11. Sardi JC, Scorzoni L, Bernardi T, Fusco-Almeida AM, MendesGiannini MJ. Candida species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *J Med Microbiol.* 2013 Jan;62(Pt 1):10-24.

12. Cornelius J, Clancy & M, Hong Nguyen. Polymerase Chain Reaction (PCR)–Based Diagnostic Assays for Invasive Candidiasis. *Curr Fungal Infect Rep*. 2011; 5:135–140.
13. Schuetz Audrey N. Invasive Fungal Infections Biomarkers and Molecular Approaches to Diagnosis. *Clin Lab Med* 33 (2013) 505–525.
14. Pappas PG. Invasive candidiasis. *InfectDisClin North Am*. 2006;20:485-506.
15. Volker Rickerts, Fredricks David N. Tissue Diagnosis of Invasive Fungal Infections: Current Limitations and the Emerging Use of Molecular Techniques. *Curr Fungal Infect Rep* (2012) 6:221–228.
16. Lipsett Pamela A. Surgical critical care: Fungal infections in surgical patients. *Crit Care Med* 2006 Vol. 34, No. 9 (Suppl.)
17. Mayr Astrid, Lass-Flörl Cornelia. Non–Culture-Based Methods for the Diagnosis of Invasive Candidiasis. *Curr Fungal Infect Rep* (2011) 5:151–156.
18. Bille Jacques. New nonculture-based methods for the diagnosis of invasive candidiasis. *Current Opinion in Critical Care* 2010,16:460–464.
19. Noriega-Iriondo María Fernanda, Vázquez-Elizondo Genaro, Carrillo-Esper Raúl. El espectro de la candidiasis en la Unidad de Terapia Intensiva. *Revista de Investigación Médica Sur, México*. Vol. 15, núm. 3, Julio-Septiembre 2008.
20. León Cristobal, Ostrosky-Zeichner Luis, Schuster Mindy. What's new in the clinical and diagnostic management of invasive candidiasis in critically ill patients. *Intensive Care Med* (2014) 40:808–819.
21. Kanecia O. Zimmerman & P. Brian Smith. Current Epidemiology and Management of Invasive Candidiasis in Infants. *Curr Fungal Infect Rep* (2014) 8:1–11.
22. Oeser Clarissa, Lamagni Theresa, Heath Paul T, Sharland Mike, Ladhani Shamez. The Epidemiology of Neonatal and Pediatric Candidemia in England and Wales, 2000–2009. *Pediatr Infect Dis J* 2012;32: 23–26
23. Quindós Guillermo, Eraso Elena, López-Soria Leyre M. y Ezpeleta Guillermo. Enfermedad fúngica invasora: ¿Diagnóstico micológico convencional o molecular?. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30 (9):560–571.
24. Kenji Uno, Shigeki Sugiura, Mitsuru Konishi Yasuki Yasuda, Keiichi Mikasa, Eiji Kita. Evaluation of diagnostic methods for *Candida albicans* translocation in a mouse model: seminested polymerase chain reaction, blood culture, and serological assays. *Japanese Society of Chemotherapy and The Japanese Association for Infectious Diseases* 2007. *J Infect Chemother* (2007) 13:196–203.

25. Pfaller Michael A. PCR and Invasive Candidiasis: A Meta-Analysis. *Curr Fungal Infect Rep* (2011) 5:111–112.
26. Gamaletsou Maria N, Sipsas Nikolaos V, Kontoyiannis Dimitrios P. Invasive Candidiasis in the Neutropenic Cancer Patient. *Curr Fungal Infect Rep* (2011) 5:34–41.
27. Stéphane Bretagne. Advances and Prospects for Molecular Diagnostics of Fungal Infections. *Curr Infect Dis Rep* (2010) 12:430–436.
28. Aguado JM, Ruíz-Campos I, Muón P, Mensa J, Almirante B, et al. Recomendaciones sobre el tratamiento de la candidiasis invasiva y otras infecciones por levaduras de la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (SEIMC). Actualización 2011. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29(5):345–361.
29. Parisa Badiie, Abdolvahab Alborzi, Mehrvash Joukar. Molecular assay to detect nosocomial fungal infections in intensive care units. *European Journal of Internal Medicine* 22 (2011) 611–615.
30. Santolaya Maria E, Alvarado Tito, Queiroz-Telles Flavio, Colombo Arnaldo L, Zurita Jeanette y cols. Active Surveillance of Candidemia in Children from Latin America. A Key Requirement for Improving Disease Outcome. *Pediatr Infect Dis J* 2014;33:e40–e44.
31. Hoenigl M, Strenger V, Buzina W, Valentin T, Koidl C, et al. European Organization for the Research and Treatment of Cancer/ Mycoses Study Group (EORTC/MSG) host factors and invasive fungal infections in patients with haematological malignancies. *J Antimicrob Chemother* 2012;67(8):2029-33.
32. Juan Pablo Caeiro & Fernando Riera Candida Sepsis: a New Entity? *Curr Fungal Infect Rep* (2014) 8:95–101
33. Kett DH, Azoulay E, Echeverria PM, Vincent JL. Extended Prevalence of Infection in ICU Study (EPIC II) Group of Investigators. Candida bloodstream infections in intensive care units: analysis of the extended prevalence of infection in intensive care unit study\*. *Crit Care Med*. 2011;39(4):665–70. doi:10.1097/CCM.0b013e318206c1ca.
34. Koller Marin H., Paiva Jose´-Artur, Charles Pierre-Emmanuel. Candidemia and non-candidemia related septic shock: are there differences between them? *Intensive Care Med* (2014) 40:1046–1048.
35. Hemílio Xafranski, Analy SA Melo, Antonia M Machado, Marcelo RS Briones and Arnaldo L Colombo. A quick and low-cost PCR-based assay for *Candida* spp. identification in positive blood culture bottles. *BMC Infectious Diseases* 2013, 13:467.

36. Mikulska Małgorzata, Calandra Thierry, Sanguinetti Maurizio, Poulain Daniel, Viscoli Claudio, the Third European Conference on Infections in Leukemia Group. The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the Third European Conference on Infections in Leukemia. *Critical Care* 2010, 14:R222.
37. Mokaddas Eiman, Burhamah Mona HA, Khan Zia U, Ahmad Suhail. Levels of (1 $\alpha$ 3)-b-D-glucan, Candida mannan and Candida DNA in serum samples of pediatric cancer patients colonized with Candida species. *BMC Infectious Diseases* 2010, 10:292.
38. Alam Fasahat F, Mustafa Abu S, Khan Zia U. Comparative evaluation of (1, 3)- $\beta$ -D-glucan, mannan and anti-mannan antibodies, and *Candida* species-specific snPCR in patients with candidemia. *BMC Infectious Diseases* 2007, 7:103 doi:10.1186/1471-2334-7-103.
39. Nett Jeniel E. and Andes David. Review of Techniques for Diagnosis of Catheter-Related *Candida* Biofilm Infections. *Current Fungal Infection Reports* 2008, 2:237–243.
40. Ostrosky-Zeichner Luis. Can Fungal Biomarkers be Used to Improve Antifungal Therapy in the Intensive Care Unit? *Current Fungal Infection Reports* 2009, 3:147–151.
41. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, et al: Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: Analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis*. 2004; 39:309–317; erratum in *Clin Infect Dis* 2004; 39:1093.
42. Lipsett Pamela A.FACS, FCCM Surgical critical care: Fungal infections in surgical patients *Crit Care Med* 2006 Vol. 34, No. 9 (Suppl.) 215-124.
43. Jordan Iolanda, Balaguer Monica, López-Castilla José-Domingo, Belda Sylvia, Shuffelman Cristina. Per-species Risk Factors and Predictors of Invasive Candida Infections in Patients Admitted to Pediatric Intensive Care Units Development of ERICAP Scoring Systems *Pediatr Infect Dis J* 2014;33:e187–e193.

ANEXO 1

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

**CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Se invita a su hijo(a) \_\_\_\_\_ para que participe en el proyecto de investigación titulado: “**Correlación Clínica del Antígeno Manano y PCR en tiempo real para Candida en el Diagnóstico de Candidiasis Invasiva en Pacientes Pediátricos Oncológicos**”, cuyo objetivo principal es conocer si existen alteraciones en algunas moléculas de la sangre de su hijo, que puedan sugerir una infección por hongos y que podrían ayudar a orientar el tratamiento infeccioso de forma rápida.

Los **procedimientos** consisten en permitir que utilicemos en el laboratorio de investigación 5ml de sangre de su hijo para realizarle cultivos y medición de sustancias. En caso de que se sospeche que la probable infección se encuentre particularmente en alguna parte de cuerpo de su hijo, se tomarán muestras de orina, secreciones o de algún otro sitio estéril para cultivarlas. Estos estudios se realizan de manera rutinaria para el diagnóstico clínico de la infección y los investigadores solo utilizaremos la información de los resultados que se obtengan.

Los **beneficios** de este estudio no serán directamente para su niño(a) ni para usted, serán para ayudar a ampliar el conocimiento sobre si los niños con esta enfermedad tienen alteraciones en sus moléculas que puedan orientar en futuras ocasiones a dar un tratamiento de manera más rápida y que esto pudiera tener alguna repercusión positiva en el desenlace de su enfermedad. Los riesgos de este estudio para su niño(a) consisten en un posible malestar en el momento de sacar la muestra de sangre, aunque esto se hará con equipo especial para minimizar el posible malestar.

La participación en este estudio es **voluntaria**. Usted es libre de retirar a su hijo(a) de esta investigación en el momento que lo desee, sin que esto afecte o le sea negada la atención necesaria para su tratamiento en esta Institución. Se le entregará una copia de esta hoja de consentimiento.

Yo \_\_\_\_\_ he leído y comprendido la información anterior y mis preguntas han sido respondidas de manera satisfactoria. He sido informado y entiendo que los datos obtenidos en el estudio pueden ser publicados o difundidos con fines científicos. Convengo en participar en este estudio de investigación. Recibiré una copia firmada y fechada de esta forma de consentimiento.

Firma de la madre/padre o tutor:

\_\_\_\_\_  
Nombre del niño(a):

\_\_\_\_\_  
Número de expediente:

\_\_\_\_\_  
Diagnóstico:

1. Testigo: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Relación con el paciente: \_\_\_\_\_

2. Testigo: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_  
Dirección: \_\_\_\_\_  
Relación con el paciente: \_\_\_\_\_

Esta parte debe ser completada por el Investigador ( o su representante):

He explicado al Sr(a). \_\_\_\_\_ la naturaleza y los propósitos de la investigación; le he explicado acerca de los riesgos y beneficios que implica su participación. He contestado a las preguntas en la medida de lo posible y he preguntado si tiene alguna duda. Acepto que he leído y conozco la normatividad correspondiente para realizar investigación en seres humanos y me apego a ella.

Una vez concluida la sesión, de preguntas y respuestas, se procedió a firmar el presente documento.

Nombre y firma del Investigador: \_\_\_\_\_  
Dirección: \_\_\_\_\_  
Teléfono: \_\_\_\_\_  
Fecha: \_\_\_\_\_

## ANEXO 2

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

### CARTA DE ASENTIMIENTO DEL MENOR

Si tú deseas platicar con el doctor del estudio en privado, por favor pídeselo. Este formato puede contener palabras o información que tú no entiendas. Por favor pídele al doctor del estudio o al personal del estudio que te explique cualquier cosa que no entiendas.

A ti se te ha pedido participar en un estudio de investigación que se llama: **”Correlación Clínica del Antígeno Manano y PCR en tiempo real para Candida en el Diagnóstico de Candidiasis Invasiva en Pacientes Pediátricos Oncológicos”**.

Te han pedido que participes porque posiblemente tienes una enfermedad en la sangre o en alguna otra parte de tu cuerpo causada por un pequeño microorganismo que es un hongo y se llama *Candida* y queremos estudiar algunas moléculas de tu sangre que puedan ayudarnos a identificar esta infección. El doctor del estudio te explicará más acerca de esta enfermedad si tuvieras alguna pregunta.

Si decides que deseas participar en este estudio, tu participación consiste en permitirnos analizar una muestra de sangre que los médicos te tomaron. Si los médicos deciden que requieren tomar una muestra de orina o de algún otra parte de tu cuerpo para cultivarlos y poder hacer el diagnóstico, nosotros solamente utilizaremos la información de los resultados que se obtengan.

El objetivo de participar en el estudio, es obtener resultados que a futuro nos permitan identificar algunas moléculas que de manera más temprana, nos puedan orientar a la presencia de una infección por hongos.

Cualquier duda que tengas por favor pregúntale a tu doctor o a tus padres.

Si decides participar en el estudio, es posible que puedas tener molestias o dolor en el sitio de punción donde te tomaron la sangre. Si tuvieras alguna molestia por favor dile a tu doctor. Si no entiendes algo, por favor pide al doctor que te lo vuelvan a explicar.

Si tú decides que no quieres participar en el estudio, no hay problema, puedes decírselo al doctor. Tú puedes terminar tu participación en el estudio en cualquier momento. Tú recibirás el mismo tratamiento y atención médica del doctor que recibías antes y no se te tratará de manera diferente.

Si tú firmas abajo con tu nombre, significa que entiendes la información que se te presentó acerca del estudio, que todas tus preguntas fueron contestadas y que te ofreces como voluntario para participar en este estudio. Puedes hacer preguntas en cualquier momento.

Nombre o firma del niño: \_\_\_\_\_

Fecha y hora: \_\_\_\_\_

Nombre y firma del investigador: \_\_\_\_\_

Fecha y hora: \_\_\_\_\_

Testigo 1:

Nombre y firma: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Relación con el paciente: \_\_\_\_\_

Testigo 2:

Nombre y firma: \_\_\_\_\_ Fecha: \_\_\_\_\_

Dirección: \_\_\_\_\_

Relación con el paciente: \_\_\_\_\_