

Diagnóstico microbiológico tradicional de la candidiasis invasora en el enfermo crítico no neutropénico

M^a Soledad Cuétara¹, Almudena Alhambra² y Amalia del Palacio²

¹Servicio de Microbiología, Hospital Severo Ochoa, Leganés y ²Servicio de Microbiología, Unidad de Micología, Hospital Universitario 12 de Octubre, Madrid

Resumen

La candidiasis invasora (CI) en el paciente crítico no neutropénico es la infección fúngica más frecuente (80%), y se asocia a una elevada morbimortalidad. El diagnóstico microbiológico de la CI es difícil, siendo la positividad de las pruebas tradicionales de laboratorio de aparición tardía. En este trabajo se presenta la utilidad del examen directo y de los cultivos de diversas muestras, así como el valor de los cultivos de vigilancia para establecer el diagnóstico de la CI.

Palabras clave

Candida spp., Candidiasis invasora, Diagnóstico microbiológico tradicional

Traditional microbiological diagnosis for invasive candidiasis in critical non-neutropenic patients

Summary

Invasive candidiasis is the most prevalent fungal infection in the critical non neutropenic patient (80%) and is associated with high morbimortality. Microbiological diagnosis is difficult and the positivity of traditional tests appears late in the course of infection. We herein discuss the utility of direct examination and cultures from different sites and the value of surveillance cultures for establishing the likelihood of invasive candidiasis.

Key words

Candida spp., Invasive candidiasis, Traditional microbiological diagnosis

La incidencia de las infecciones fúngicas invasoras (IFI) en el paciente crítico en este último decenio ha experimentado un incremento notable debido a varios factores entre los que cabe mencionar: el avance en sistemas de soporte vital, el uso de antibióticos de amplio espectro, citostáticos e inmunosupresores, el aumento progresivo de edad en los enfermos de UCI así como el empleo cada vez más extendido de nutrición parenteral total y suspensiones lipídicas [2,19,32].

La mayoría de dichas IFI son debidas a *Candida* spp. (80%); sin embargo, la verdadera incidencia de la candidiasis invasora (CI) es poco conocida, suponiendo su diagnóstico un reto clínico debido en parte a que su expresión es variable (desde inaparente a shock séptico), inespecífica (el 80% de los pacientes críticos tiene fiebre y aproximadamente la mitad leucocitosis) [23] y tardía en el

curso de la enfermedad. Los signos clínicos como lesiones en la piel o artritis sépticas son poco frecuentes cuando la CI afecta a pacientes críticos y además son inespecíficos, a excepción de la endoftalmitis. Por ello el examen oftalmológico es una herramienta importante para monitorizar a la población en riesgo de CI, pudiendo establecer el diagnóstico de diseminación tanto en pacientes con hemocultivos negativos [31] como con candidemias (presente en el 3,7-5%)[10]. Un factor sobreañadido, que contribuye a oscurecer el diagnóstico, es que en estos enfermos coexiste la CI con otras morbilidades [23], por lo que se comprende que en la práctica clínica haya que sospechar la enfermedad en situaciones de riesgo elevado [19]. También supone un reto microbiológico, ya que los procedimientos tradicionales diagnósticos tienen escasa rentabilidad y se positivizan tardíamente en el curso de la enfermedad. Sin ir más lejos, la candidemia supone el 10-20% de las candidiasis invasivas [2,12,14].

Da una idea de la dificultad diagnóstica el hecho de que en una serie de 100 necropsias en enfermos críticos [25] el 16% de los diagnósticos premortem eran incorrectos (gran parte de ellos por CI) y no se había instaurado un tratamiento específico que pudiera haber prolongado la supervivencia del enfermo. En otra serie necróptica de la Universidad de Greijswald [27], la CI aumentó del 3,2% en el periodo de 1994-1998 al 10% en el de 1999-2003.

Todo ello demuestra no solo que la CI tiene una morbimortalidad importante en pacientes críticos, sino que además la mayoría de las veces es un diagnóstico

Dirección para correspondencia:

Dra. M^a Soledad Cuétara García
Servicio de Microbiología
Hospital Severo Ochoa
Avda de Orellana s/n
28911 Leganés, Madrid, España
Tel.: +34 91 481 8441
Fax: +34 91 481 8442
Email: mcuetara.hsvo@salud.madrid.org

postmortem debido a la dificultad diagnóstica. La importancia de conseguir un diagnóstico microbiológico, repercute de forma directa en la supervivencia del enfermo: la mortalidad por candidemia en el enfermo crítico no tratado se sitúa en torno al 74-77%, mientras que en los tratados es de un 27-33% [17,28]; es más, influye decisivamente la rapidez de la implantación del antifúngico, pasando de una tasa de mortalidad del 40% si se instaura precozmente, al 78% si se hace de forma tardía [18].

Actualmente están en desarrollo y en proceso de validación una serie de técnicas microbiológicas diagnósticas independientes del cultivo, que permitirían la instauración de un tratamiento precoz o adelantado. Frente a éstas, la ventaja distintiva del cultivo es que permite la identificación de la especie infectante y el estudio de la sensibilidad *in vitro* que tienen consecuencias terapéuticas y epidemiológicas.

En el año 2002 se llegó a un consenso para la definición de IFI entre la EORTC y el Mycoses Study Group del NIAID [1], aunque en la práctica clínica tiene varias limitaciones: la población donde se define son pacientes oncohematológicos (neutropénicos de alto riesgo) y por otro lado no resultan útiles a la cabecera del enfermo [10], de hecho en una publicación reciente [8] se comenta que los criterios mencionados deberían ser revisados, ampliados y de aplicación a enfermos críticos. Sin embargo, hay que reconocer que estas definiciones ofrecen la ventaja de permitir utilizar criterios comunes en publicaciones sobre terapéutica y validación de técnicas diagnósticas.

Estudio microbiológico en muestras significativas: examen directo y cultivo

La obtención con técnicas asépticas (biopsia, aspiración con aguja fina, etc.) de muestras (líquidos y tejidos) procedentes de lugares anatómicos estériles (LCR, líquido pleural, líquido pericárdico, líquido articular, líquido ocular, etc.), permite establecer de forma concluyente el diagnóstico de CI por cultivo o por estudio histológico (mostrando infiltración por levaduras con/sin pseudomicelios en tejido viable) [1]. Sin embargo, no siempre es posible la realización de estos procedimientos que pueden resultar invasivos e incluso contraindicados en la mayoría de los pacientes críticos.

El examen directo permite establecer un diagnóstico presuntivo rápido, aunque no la especie infectante excepto en los casos de *Candida glabrata*, donde la ausencia de pseudomicelio y su pequeño tamaño nos permitiría sospecharla. La visión directa puede realizarse en fresco con KOH al 40% en el caso de tratarse de muestras líquidas (preferiblemente tras concentración con centrifugación para aumentar la rentabilidad del examen directo) o podemos emplear tinciones (Gram, Giemsa, Wright, PAS, metenamina plata, o blanco de calcoflúor) para revelar la presencia fúngica. Cuando se trata de tejidos es necesario realizar cortes histológicos y tinciones adecuadas. Si bien el examen directo es rápido, cuando existen pocos elementos fúngicos puede ser negativo siendo más sensible y específico el cultivo.

Las levaduras del género *Candida* son poco exigentes, crecen con facilidad en 24-48 h a 35-37 °C en medios habituales como el agar dextrosado de Sabouraud con/sin cloranfenicol (Figura 1), sin embargo, el empleo en la actualidad de medios cromógenos diferenciales (Figuras 2 y 3) permite detectar la existencia de infecciones causadas por varias especies de *Candida* e incluso hacer una presunción de especie, útil a la hora de implantar la terapia antifúngica inicial.

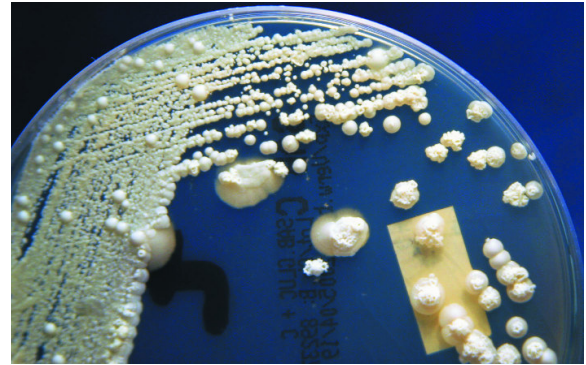


Figura 1. Cultivo mixto en agar de Sabouraud con dextrosa y cloranfenicol de *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis*.

Otra forma de probar que estamos ante una CI es el aislamiento de *Candida* spp. en un hemocultivo coincidiendo con un cuadro clínico compatible [1]. Sin embargo, aunque en los últimos años han mejorado las técnicas de hemocultivo para la detección de la candidemia, su sensibilidad se sitúa en torno al 40-60% para establecer el diagnóstico de candidiasis profunda, lo cierto es que existe una relación entre el número de tejidos profundos afectados por la infección y el nivel de fungemia, así por ejemplo en enfermos en los que solo hay afectación de un órgano la sensibilidad del hemocultivo es del 28% frente al 78% cuando existen más de tres sitios afectados. [3].



Figura 2. Cultivo de *Candida krusei* en CHROMagar Candida.

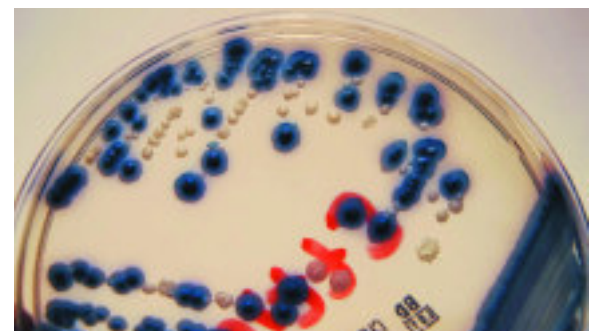


Figura 3. Cultivo de *Candida tropicalis* y *Candida parapsilosis* en CHROMagar Candida.

En enfermos críticos postquirúrgicos, la peritonitis por *Candida* spp. es la micosis más habitual [6]. El valor etiológico de *Candida* en la peritonitis después de una perforación gastrointestinal no está clara y en la práctica clínica el diagnóstico de la CI es difícil de establecer porque los hemocultivos son negativos y la infección aparece en el contexto de un paciente febril con tratamiento antibiótico empírico y muy colonizado [9,26].

Aislamiento de *Candida* spp. de lugares no estériles

La valoración del aislamiento de *Candida* spp. de lugares no estériles tiene una dificultad semejante a la de su aislamiento en mucosas. El prototipo de ello es su aislamiento en orina; la candiduria asintomática tiene pocas consecuencias y responden poco a la terapia antifúngica [24]. Los cultivos cuantitativos de orina y la piuria son de poca utilidad para diferenciar entre infección y colonización en el enfermo crítico [15].

Igualmente de problemático es el aislamiento de *Candida* spp. en secreciones respiratorias; hay que aclarar que la verdadera prevalencia de la neumonía candidiásica en no neutropénicos es desconocida, aunque en dos estudios necrópsicos en pacientes quirúrgicos la sitúa en torno al 20%, los focos que aparecen suelen ser pequeños [4,13]. Incluso aunque esté presente la neumonía aparecen clínicamente imperceptibles y en un estudio prospectivo hecho en 435 enfermos de UCI no neutropénicos; sin embargo, no se encontró ningún caso convincente de neumonía candidiásica [20]. El-Ebiary et al. [11] correlacionando el lavado broncoalveolar, la biopsia transbronquial y la biopsia pulmonar abierta postmortem, hallaron un 8% de neumonías candidiásicas.

En cualquier caso, los cultivos cuantitativos de secreciones respiratorias si bien indican colonización y con ello un factor de riesgo de CI; sin embargo, no permiten establecer de ninguna manera el diagnóstico de neumonía candidiásica y mucho menos tomar decisiones terapéuticas basándose en ello [11].

Valor de los cultivos de vigilancia en el paciente crítico no neutropénico

En un estudio prospectivo clásico realizado por Pittet et al. [22] hace un decenio se estudió el valor de la colonización en los enfermos críticos no neutropénicos. En este estudio se definía como Índice de Colonización (IC) el número total de lugares anatómicos superficiales colonizados dividido por el número total de muestreados, y se definía el Índice de Colonización Corregido (ICC) al IC multiplicado por el número de lugares con colonización intensa dividido por el número de lugares colonizados.

Tabla. Valor predictivo de los cultivos de vigilancia en relación con desarrollo de la CI, según Pittet et al. [26].

Nº de sitios colonizados por <i>Candida</i> spp.	S (%)	E (%)	VPP (%)	VPN (%)
≥ 2 sitios	100	22	44	100
≥ 3 sitios	45	72	50	68
Índice de colonización ≥ 0,5	100	69	66	100
Índice corregido ≥ 0,4	100	100	100	100

S: sensibilidad; E: especificidad; VPP: valor predictivo positivo; VPN: valor predictivo negativo

En este estudio se demostraba que la intensidad de la colonización era un factor predictivo independiente de la CI, existiendo una igualdad genotípica entre las cepas colonizantes y las aisladas en tejidos profundos (CI). La colonización en la UCI oscila del 5-15% en los primeros días de estancia en la unidad, ascendiendo al 50-86% en las estancias largas (por encima de 7-10 días). En la tabla, reproducida del trabajo de Pittet et al. [22], se recoge la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo de los cultivos de colonización en relación con la predicción de la CI. Se puede afirmar que sin colonización previa no hay candidiasis profunda [16,24,30,33], sin embargo algún estudio parecería contradecir esta afirmación [5].

Indudablemente, estos cultivos de vigilancia representan una carga de trabajo definida por Sobel y Rex [29] como terroríficos y laboriosos, y se podría cuestionar su coste-beneficio si no se delimita su realización a población de alto riesgo de CI. Sin embargo, conviene precisar que el estudio de Pittet et al. [22] debe ser ampliado a gran escala con estudios prospectivos como los recientemente publicados [7,21], debiéndose precisar que en el momento actual aunque se tome este estudio como referencia, no hay consenso sobre los siguientes puntos:

- ¿En qué día de la estancia en UCI debe iniciarse la toma de cultivos de vigilancia?
- ¿Con qué periodicidad deben hacerse estos cultivos de vigilancia?
- ¿De qué lugares anatómicos superficiales deben hacerse las tomas de los cultivos de vigilancia?
- ¿Cuántos lugares anatómicos deben ser muestreados?
- ¿Deben considerarse como cultivos de vigilancia los lugares infectados?
- ¿Qué técnicas de recogida de muestras deben utilizarse?
- ¿Qué procedimientos y en qué medios de cultivo deben sembrarse las muestras de vigilancia?
- ¿Qué se entiende por colonización intensa?, ¿qué puntos de corte deben utilizarse?

Bibliografía

1. Ascioğlu S, Rex JH, de Pauw B, Bennett JE, Bille J, Crokaert F, Denning DW, Donnelly JP, Edwards JE, Erjavec Z, Fiere D, Lortholary O, Maertens J, Meis JF, Patterson TF, Ritter J, Selleslag D, Shah PM, Stevens DA, Walsh TJ on behalf of the Invasive Fungal Infections Cooperative Group of the European Organization for Research and Treatment of Cancer and Mycoses Study Group of the National Institute of Allergy and Infectious Diseases. 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.
2. Beck-Sague CM, Jarvis WRJ. The national nosocomial infections surveillance system. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States. *J Infect Dis* 1993; 167: 1247-1251.
3. Berenguer J, Buck M, Witebsky F, Stock F, Pizzo PA, Walsh TJ. Lysis-centrifugation blood cultures in the detection of tissue-proven candidiasis: disseminated versus single organ infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1993; 17: 103-109.
4. Bernhardt HE, Orlando JC, Benfield JR, Hirose FM, Foos RY. Disseminated candidiasis in surgical patients. *Surg Gynecol Obstet* 1972; 134: 819-825.
5. Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM, Edwards JE, Patterson JE, Pfaller MA, Rangel-Frausto MS, Rinaldi MG, Saiman L, Wiblin RT, Wenzel RP and the NEMIS Study Group. Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 177-186.
6. Calandra T, Bille J, Schneider R, Mosimann F and Fracioli P. Clinical significance of *Candida* isolated from peritoneum in surgical patients. *Lancet* 1989; 2: 1437-1440.
7. Charles PE, Dalle F, Aube H, Doise JM, Quenot JP, Aho LS, Chavanet P, Blettery B. *Candida* spp. colonization significance in critically ill medical patients: a prospective study. *Intensive Care Med* 2005; 31: 393-400.
8. De Pauw BE, Patterson TF. Should consensus guidelines specific criteria for the diagnosis of invasive fungal infection be changed?. *Clin Infect Dis* 2005; 41: S377-S380.
9. De Waele JJ, Vogelaers D, Blot S, Colardyn F. Fungal infections in patients with severe acute pancreatitis and the use of prophylactic therapy. *Clin Infect Dis* 2003; 37: 208-213.
10. Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis* 2003; 3: 685-702.
11. El-Ebiary M, Torres A, Fabrega N, Puig de la Bella casa J, Gonzalez J, Ramirez J, del Baño D, Hernández C, Jiménez de Anta MT. Significance of the isolation of *Candida* species from respiratory samples in critically ill, non neutropenic patient. *Am J Respir Crit Care Med* 1997; 156: 583-590.
12. Pfaller MA. Nosocomial candidiasis: emerging species, reservoirs and modes of transmission. *Clin Infect Dis* 1996; 22 (Suppl 2): 89-94.
13. Gaines JD, Remington JS. Disseminated candidiasis in the surgical patient. *Surgery* 1972; 72: 730-736.
14. Jarvis WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on *Candida* species. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 1526-1530.
15. Kauffman CA. Candiduria. *Clin Infect Dis* 2005; 41: S371-S376.
16. Krcmery VC, Babela R. Candidemia in the surgical intensive care unit. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 1537-1538.
17. Nguyen MH, Peacock JE, Tanner DC, Morris AJ, Nguyen ML, Syndman DR, Wagener MM, Yu VL. Therapeutic approaches in patients with candidemia. Evaluation in a multicenter, prospective, observational study. *Arch Intern Med* 1995, 155: 2429-2435.
18. Nolla-Salas, J, Sitges-Serra, A, León-Gil, C, Martínez-González J, León-Corregidor MA, Ibáñez-Lucía P, Torres-Rodríguez JM and Study Group of Fungal Infection in the ICU. Candidemia in non-neutropenic critically ill patients: analysis of prognostic factors and assessment of systemic antifungal therapy. *Intensive Care Med* 1997; 23: 23-30.
19. Ostrosky-Zeichner L. New approaches to the risk of *Candida* spp. in the intensive care unit. *Curr Opin Infect Dis* 2003; 16: 533-537.
20. Petri MG, König J, Moecke HP, Gramm HJ, Barkow H, Kujath P, Denhart R, Schäfer H, Meyer N, Kalmar P, Thülig P, Müller J, Lode H, Paul-Ehrlich Society for Chemotherapy and Divisions of Mycology and Pneumonia Research. Epidemiology of invasive candidiasis in ICU patients: a prospective multicenter study in 435 non neutropenic patients. *Intensive Care Med* 1997; 23: 317-325.
21. Piarroux R, Grenouillet F, Balvay P, Tran V, Blasco G, Millon L, Boillot A. Assessment of preemptive treatment to prevent severe candidiasis in critically ill surgical patients. *Crit Care Med* 2004; 32: 2443-2449.
22. Pittet D, Monod M, Suter PM, Frenk E, Auckenthaler R. *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg* 1994; 220: 751-758.
23. Pittet D, Garbino J. Fungal Infections in the critically ill. *Curr Opin Crit Care* 1995; 1: 369-380.
24. Rex JH, Sobel JD. Prophylactic antifungal therapy in the intensive care unit. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1191-1200.
25. Roosen J, Frans E, Wilmer A, Knockaert DC, Bobbaers H. Comparison of pre-mortem clinical diagnosis in critically ill patients and subsequent autopsy findings. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 562-567.
26. Sandven P, Quist H, Skovlund E, Giercksky KE and the NOR GAS group and the Norwegian Yeast Study Group. Significance of *Candida* recovered from intraoperative specimens in patients with intra-abdominal perforations. *Crit Care Med* 2002; 30: 541-547.
27. Schwesinger G, Junghans D, Schröder G, Bernard H, Knocke M. Candidosis and aspergillosis as autopsy findings from 1994 to 2003. *Mycoses* 2005; 48: 176-180.
28. Slotman GJ, Shapiro E and Moffa SM. Fungal sepsis: multisite colonization versus fungemia. *Am Surg* 1994; 60: 107-113.
29. Sobel JD, Rex JH. Invasive candidiasis: turning risk into a practical prevention policy? *Clin Infect Dis* 2001; 33: 187-190.
30. Tran LT, Auger P, Marchand R, Carrier M, Pelletier C. Epidemiological study of *Candida* spp. colonization in cardiovascular surgical patients. *Mycoses* 1997; 40: 169-173.
31. Vincent JL, Anaissie E, Bruining H, Demajo W, El-Ebiary H, Haber J, Hiramatsu Y, Nitenberg G, O Nyström P, Pittet D, Rogers T, Sandven P, Sganga G, Schaller MD, Solomkin J. Epidemiology, diagnosis and treatment of systemic *Candida* infection in surgical patients under intensive care. *Intensive Care Med* 1998; 24: 206-216.
32. Wenzel RP. Nosocomial candidemia and attributable mortality. *Clin Infect Dis* 1995; 20: 1531-1534.
33. Yazdanporast K, Auger P, Marchand R, Carrier M, Cartier R. Predictive value of *Candida* colonization index in 131 patients undergoing two different cardiovascular surgical procedures. *J Cardiovas Surg* 2001; 42: 339-343.