



Nota

Epidemiología de las fungemias en un hospital pediátrico de alta complejidad

Patricia Ester Santos^{a,*}, Susana Córdoba^b, Alfonso Carrillo-Muñoz^d, Laura Rodero^b,
Etelvina Rubaglio^a y Marcelo Soria^c

^a Servicio de Microbiología, Hospital Nacional de Pediatría, Dr. J.P. Garrahan, Buenos Aires, Argentina

^b Departamento de Micología, Instituto Nacional de Enfermedades Infecciosas, ANLIS, Dr. Carlos G. Malbrán, Buenos Aires, Argentina

^c Cátedra de Microbiología Agrícola, Facultad de Agronomía, Universidad de Buenos Aires, Buenos Aires, Argentina

^d Departamento Microbiología, ACIAM, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 13 de agosto de 2009

Aceptado el 30 de julio de 2010

On-line el 5 de agosto de 2010

Palabras clave:

Fungemia

Epidemiología

Candida

Sensibilidad antifúngica

Argentina

RESUMEN

Antecedentes: Se realizó un estudio retrospectivo desde septiembre de 2001 a septiembre de 2003 de las fungemias por levaduras en el Hospital Nacional de Pediatría Prof. Dr. J. Garrahan, de Buenos Aires.

Objetivos: Conocer la distribución de las especies de levaduras de interés médico y evaluar el perfil de sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos.

Métodos: Se determinó la concentración mínima inhibitoria (CMI) según el documento M27-A2 del CLSI, y además, las curvas de letalidad frente a la anfotericina B.

Resultados-Conclusiones: Se aislaron *Candida parapsilosis* (32,6% de los aislamientos), *Candida albicans* (26,5%), *Candida tropicalis* (24,5%), y otras especies de levaduras (16,4%). Los aislamientos de *Candida* fueron sensibles a los antifúngicos evaluados pero se detectaron, mediante el uso de curvas de letalidad, cepas tolerantes a la anfotericina B.

© 2009 Revista Iberoamericana de Micología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Epidemiology of fungaemia in a paediatric hospital of high complexity

ABSTRACT

Background: A retrospective study on the epidemiology of fungaemia due to yeasts of medical importance at the Hospital Nacional de Pediatría Prof. Dr. J. Garrahan, Buenos Aires was conducted between September 2001 and September 2003.

Objectives: To learn the distribution of yeast species and to evaluate their *in vitro* antifungal susceptibility profile.

Methods: The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined according to the CLSI M27-A2 procedure, and time kill curves against amphotericin B were also performed.

Results-Conclusions: The species isolated were *Candida parapsilosis* (32.6% of isolates); *Candida albicans* (26.5%), *Candida tropicalis* (24.5%), and other yeasts (16.4%). *Candida* isolates were susceptible to the antifungals evaluated, but amphotericin B-tolerant isolates were detected using time kill curves.

© 2009 Revista Iberoamericana de Micología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Fungaemia

Epidemiology

Candida

Antifungal susceptibility

Argentina

La candidemia es la infección fúngica nosocomial más frecuente en el medio hospitalario. Sin embargo, su incidencia global es difícil de precisar. Si bien *Candida albicans* representa, en general, el 50% de las levaduras aisladas, se observa un aumento de nuevas especies emergentes^{3,4,9,10,18,23,24}. En pediatría son escasos los reportes en los que se evalúan los factores de riesgo de mortalidad en las candidemias nosocomiales^{2,21}. Dada la importancia de esta patología, se realizó un estudio retrospectivo sobre

la epidemiología de las fungemias en el Hospital Nacional de Pediatría Dr. J. Garrahan, de Buenos Aires, Argentina. Los objetivos fueron determinar la incidencia de las especies implicadas y evaluar los patrones de sensibilidad *in vitro* a los fármacos antifúngicos.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio retrospectivo en el que se incluyeron los pacientes que fueron hospitalizados en el Hospital Dr. J. Garrahan entre septiembre de 2001 y septiembre de 2003 y que desarrollaron fungemia por levaduras durante ese periodo.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: bernabesa@yahoo.com.ar (P.E. Santos).

Las muestras fueron tomadas de hemocultivo periférico y procesadas por métodos automatizados (BacT/Alert, BioMérieux, EE.UU.) y manuales (Isolator 1.5, Wampole Laboratories, EE.UU.)⁸. La identificación de la especie en cada caso se realizó mediante el API 20C AUX (BioMérieux, Francia) y con estudios adicionales de las características morfológicas, fisiológicas y sexuales según técnicas estandarizadas¹³.

Se utilizó el método de referencia M27-A2 del Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)¹⁶ para valorar la actividad *in vitro* de la anfotericina B (AMB) (Sigma-Aldrich, EE.UU.), el fluconazol (FCZ) (Pfizer, Argentina) y el itraconazol (ITZ) (Janssen, Argentina). En todas las pruebas se incluyeron las cepas control de calidad *Candida parapsilosis* ATCC 22019 y *Candida krusei* ATCC 6258¹⁶. Se realizaron curvas de letalidad para evaluar la cinética de actividad fungicida de AMB *in vitro* a una concentración final de 1 mg/l siguiendo el método descrito por Klepser¹² con siete cepas de *C. parapsilosis*, tres de *Candida tropicalis* y dos de *Pichia anomala*, seleccionadas de pacientes con evolución clínica desfavorable. El inóculo se preparó a partir de un cultivo de 24 h y se ajustó a 1 de la escala McFarland (10^7 UFC/ml). A distintos tiempos de incubación (0; 6; 12; 24; 48 y 72 h) se tomaron alícuotas de las suspensiones, con y sin antifúngicos, y se hicieron las diluciones correspondientes en solución 0,15 M de cloruro de sodio estéril (solución salina 0,85%) (10^1 ; 10^2 ; 10^3 ; 10^4)¹². Después de incubar durante 24 a 48 h se efectuó el recuento de colonias (UFC/ml). Las curvas de letalidad fueron transformadas a \log_{10} (UFC/ml) en función del tiempo, con el fin de evaluar la reducción del inóculo con respecto a los pocillos control (actividad fungicida) durante los tiempos establecidos para las lecturas. El análisis de los datos epidemiológicos se realizó con el programa estadístico R¹⁹. El análisis de las frecuencias en tablas de contingencia se realizó con el test exacto de Fisher mediante el procedimiento Fisher test de R¹.

Resultados y discusión

Se estudiaron 48 pacientes en los que se diagnosticaron 49 episodios de fungemia. La edad promedio fue de tres años, y hubo

una asociación significativa de fungemia con el sexo masculino (56,3%, $p < 0,05$). El 42,8% de las fungemias se diagnosticó en niños menores de un año. *Candida parapsilosis* fue la especie aislada con mayor frecuencia ($n=16$; 32,6%), seguida de *C. albicans* ($n=13$; 26,5%) y *C. tropicalis* ($n=12$; 24,5%), contrastando con otros trabajos en los que *C. albicans* era predominante (60%) en una población exclusivamente neonatal¹⁷ o global en el ámbito hospitalario^{5,10,11}. Se aislaron además *Cryptococcus albidus* ($n=1$; 2%), *Cryptococcus neoformans* ($n=1$; 2%), *Trichosporon* spp. ($n=2$; 4,2%), *Pichia anomala* ($n=3$; 6,1%) y *Saccharomyces cerevisiae* ($n=1$; 2%) (tabla 1). Estos microorganismos se han convertido en patógenos emergentes que deberían ser considerados en toda muestra clínica significativa^{7,14,18}. Veinte de los casos (40,8%) procedían de la sala de neonatología, coincidiendo además con el mayor número de aislamientos de *C. parapsilosis* registrados en todo el hospital. De los 49 episodios de fungemia, 14 (28,5%) estuvieron asociadas a catéter. En siete pacientes se encontró otro lugar de infección; cuatro de ellos presentaron vegetaciones cardíacas por *C. albicans*, hubo un caso de peritonitis fúngica por *C. tropicalis*, y en un paciente con diagnóstico de candidiasis hepatoesplénica por *C. tropicalis* (y sepsis por el mismo agente causal) se aisló *C. parapsilosis* del hemocultivo 40 días después del primer episodio de fungemia. Al séptimo caso le fue diagnosticada una artritis séptica de cadera por *C. albicans*, aislándose la levadura los tres días anteriores al hemocultivo periférico.

La candidemia produce una mortalidad que oscila entre el 40 y el 60%^{11,20}. Comparadas con las bacteriemias, las candidemias ocasionan una mayor tasa de mortalidad (3,6 veces)². En nuestro estudio, la mortalidad global por causas inherentes a la fungemia fue del 20,8%, siendo más baja que la comunicada por otros autores^{15,22}. Con respecto al tratamiento, 46 de los 48 pacientes (95,8%) recibieron AMB. Ocho fallecieron a pesar del tratamiento.

Las especies de *Candida* junto con *Pichia anomala* y *S. cerevisiae* fueron sensibles a los antifúngicos testados. En general, el rango de CMI en mg/l fue de 0,125–0,5; $< 0,125$ –4 y $< 0,015$ –0,06 para AMB, FCZ e ITZ, respectivamente. *C. albidus* mostró una menor sensibilidad a FCZ (128 mg/l) e ITZ (16 mg/ml) (tabla 2), estos hallazgos coinciden con datos de otros autores¹⁵. Cuando se realizó la curva de letalidad frente a AMB, se observó un efecto

Tabla 1
Distribución por edad y sexo de las especies de levaduras aisladas de fungemias en los pacientes hospitalizados

Edad	Especie	Sexo				Total pacientes	
		Mujer		Varón		n	%
		n	%	n	%		
< 1 mes	<i>Candida albicans</i>	3	15	4	14	7	14,3
	<i>Candida parapsilosis</i>	4	20	3	10,3	7	14,3
	<i>Candida tropicalis</i>	1	5	0	0	1	2
1 mes–12 meses	<i>Candida albicans</i>	0	0	2	7	2	4,1
	<i>Candida parapsilosis</i>	2	10	1	3,4	3	6,1
	<i>Candida tropicalis</i>	0	0	0	0	0	0
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	5	0	0	1	2
> 1 año – < 5 años	<i>Candida albicans</i>	0	0	1	3,4	1	2
	<i>Candida parapsilosis</i>	1	5	1	3,4	2	4,1
	<i>Candida tropicalis</i>	4	20	1	3,4	5	10,2
	<i>Pichia anomala</i>	0	0	3	10,3	3	6,1
	<i>Cryptococcus albidus</i>	0	0	1	3,4	1	2
5 años – < 10 años	<i>Candida albicans</i>	1	5	1	3,4	2	4,1
	<i>Candida parapsilosis</i>	1	5	1	3,4	2	4,1
	<i>Candida tropicalis</i>	0	0	1	3,4	1	2
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	0	0	1	3,4	1	2
	<i>Trichosporon</i> spp.	0	0	2	7	2	4,1
	<i>Candida albicans</i>	0	0	1	3,4	1	2
10 años – < 16 años	<i>Candida parapsilosis</i>	0	0	2	7	2	2
	<i>Candida tropicalis</i>	2	10	3	10,3	5	10,2
	Total	20	100	29	100	49	100

Tabla 2
Distribución por especies de los valores de CMI y su media geométrica en mg/l para los antifúngicos evaluados

Microorganismo	Anfotericina B		Fluconazol		Itraconazol	
	CMI rango	MG	CMI rango	MG	CMI rango	MG
<i>Candida parapsilosis</i> (n=16)	0,25-0,5	0,21	< 0,125-4	2,45	< 0,015-0,06	0,02
<i>Candida albicans</i> (n=13)	0,125-0,25	0,16	< 0,125-0,25	0,2	< 0,015	< 0,015
<i>Candida tropicalis</i> (n=12)	0,125-0,5	0,15	< 0,125-0,5	0,4	< 0,015-0,06	0,03
<i>Pichia anomala</i> (n=3)	0,125-0,5	0,25	2-4	2,52	0,06-0,125	0,08
<i>Cryptococcus neoformans</i> (n=1)	0,5	0,5	8	8	0,03	0,03
<i>Cryptococcus albidus</i> (n=1)	0,5	0,5	128	128	16	16
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (n=1)	0,25	0,25	0,5	0,5	< 0,015	< 0,015
<i>Trichosporon</i> spp. (n=2)	0,25	0,25	1	1	0,03	0,03

CMI: concentración mínima inhibitoria; MG: media geométrica.

fungicida a las 24 h para las dos cepas de *P. anomala* evaluadas (sensibles); no obstante, las diez cepas de *Candida* spp. (CMI 0,125-0,5 mg/l) fueron tolerantes a la AMB y permanecieron viables aún a las 72 h de exposición al antifúngico. Si bien la CMI permite detectar la aparición de resistencia a los azoles en general, parecería no ser adecuada para discriminar los aislamientos sensibles de los resistentes a la AMB. Así, para los fármacos con actividad fungicida, como la AMB, el ensayo de curvas de letalidad permitiría distinguir las categorías de resistencia o tolerancia de los aislamientos frente a este polieno. Por consiguiente, los resultados serían más apropiados como ayuda en la decisión de un tratamiento más efectivo⁶. Estos hallazgos, aunque preliminares, nos alientan a continuar investigando para contribuir al conocimiento de los patógenos emergentes, la prevención y el correcto manejo de esta alarmante patología que es la infección fúngica nosocomial, y la vigilancia de la sensibilidad/resistencia a los antifúngicos, a la vez que ponderamos la utilidad de las curvas de letalidad para la elección del tratamiento más adecuado^{6,12}.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Una beca para la Investigación Médica otorgada por la Fundación Roemmers facilitó este estudio de colaboración entre el Hospital de Pediatría Prof. Dr. J. P. Garrahan y el INEI, ANLIS Dr. Carlos G. Malbrán.

Bibliografía

- Agresti A. Categorical data analysis. Wiley series in Probability and Statistics, Second Edition. New York: Wiley, Wiley-Interscience; 2002.
- Ashkenazi S, Leibovici L, Samra Z, Konisberger H, Drucker M. Risk factors for mortality due to bacteremia and fungemia in childhood. Clin Infect Dis. 1992;14:949-51.
- Beck-Sagué CM, Jarwis WR; The National Nosocomial Infections Surveillance System. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. J Infect Dis. 1993;167:1247-51.
- Berrouane YF, Herwaldt A, Pfaller MA. Trends in antifungal use and Epidemiology of nosocomial yeast infections in an university hospital. J Clin Microbiol. 1999;37:531-7.
- Blyth CC, Chen SC, Slavin MA, Serena C, Nguyen Q, Marriott D, et al.; the Australian Candidemia Study. Not just little adults: candidemia epidemiology, molecular characterization, and antifungal susceptibility in neonatal and pediatric patients. Pediatrics. 2009;123:1360-8.
- Cantón E, Pemán J. Curvas de letalidad en antifúngicos. Rev Iberoam Micol. 1999;16:82-5.
- Del Palacio A, Villar J, Alhambra A. Epidemiología de la candidiasis invasiva en población pediátrica y adulta. Rev Iberoam Micol. 2009;26:2-7.
- Edmond MB, Wallace SE, Mc Clish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States Hospitals; a three year analysis. Clin Infect Dis. 1999;29:239-44.
- Ewards JE. *Candida* species. En: Mandell GL, Bennett JE, Dolin R, editores. Principles and Practice of Infectious Diseases, 4th ed. New York: Churchill Livingstone; 1995. p. 2289-306.
- Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storf S, Medoff G, Dunagan WC. Candidemia in a tertiary care hospital: Epidemiology, Risk factors and Predictors of Mortality. Clin Infect Dis. 1992;15:414-21.
- Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. Clin Infect Dis. 2009;48:1695-703.
- Klepser ME, Ernst EJ, Lewis RE, Ernst ME, Pfaller M. Influence of test conditions on antifungal time-kill curve results: Propose for standardized methods. Antimicrob Agents Chemother. 1998;42:1207-12.
- Kurtzman, Fell NJW. The yeast, a taxonomic study. Amsterdam: Ed. Elsevier Science Publisher B.W.; 1998.
- Lewis RE. Overview of the changing epidemiology of candidemia. Curr Med Res Opin. 2009;25:1732-40.
- Nace HL, Horn D, Neofytos D. Epidemiology and outcome of multiple-species candidemia at a tertiary care center between 2004 and 2007. Diagn Microbiol Infect Dis. 2009;64:289-94.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. Approved standard M27-A2. National Committee for Clinical Laboratory Standards. PA, USA: Wayne; 2002.
- Orozco PA, Cortés JA, Parra CM. Colonización por levaduras en recién nacidos y personal de salud en la unidad de cuidados intensivos neonatales de un hospital universitario en Bogotá, Colombia. Rev Iberoam Micol. 2009;26:108-11.
- Pontón J, Rüchel R, Clemons KV, Coleman DC, Grillot R, Guarro J, et al. Emerging pathogens. Med Mycol. 2000;38(Suppl 1):225-36.
- R Development CORE TEAM. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria 2007. ISBN 3-900051-07-0. Disponible en: <http://www.R-project.org>.
- Résendiz Sanchez J, Morales Aguirre JJ. Factores asociados a mortalidad por fungemias causadas por *Candida* sp. en niños. Bol Med Hosp Infant Mex. 2007;64:91-8.
- Roilides E, Kaditsoglou I, Zahides D, Bibashi E. Invasive candidosis in pediatric patients. Clin Microbiol Infect. 1997;3:192-7.
- Ruan SY, Hsueh PR. Invasive candidiasis: an overview from Taiwan. J Formos Med Assoc. 2009;108:443-51.
- Silva AP, Miranda IM, Lisboa C, Pina-Vaz C, Rodrigues AG. Prevalence, Distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis* and *C. metapsilosis* in a tertiary care hospital. J Clin Microbiol. 2009;47:2392-7.
- Vandijck DM, Blot SI, Vandekerckhove L, Vogelaers DP. Fluconazole exposure and selection for *Candida non-albicans*. Anesth Analg. 2008;107:2091.