



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

“Revisión sistemática de los métodos diagnósticos no basados en cultivo para candidiasis invasora en pacientes adultos no neutropénicos críticamente enfermos”

Alberto Fernando Buitrago Gutiérrez, MD

Código: 05599148

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina Interna

Unidad de Infectología

Bogotá, Colombia

2013

“Revisión sistemática de los métodos diagnósticos no basados en cultivo para candidiasis invasora en pacientes adultos no neutropénicos críticamente enfermos”

Alberto Fernando Buitrago Gutiérrez, MD

Trabajo de investigación presentado como requisito parcial para optar al título de:
Especialista en Infectología

Director de trabajo de grado:

Doctor. Carlos Humberto Saavedra Trujillo MD, M Sc

Universidad Nacional de Colombia

Facultad de Medicina

Departamento de Medicina Interna

Unidad de Infectología

Bogotá, Colombia

2013

“Revisión sistemática de los métodos diagnósticos no basados en cultivo para la candidiasis invasora en pacientes críticamente enfermos no neutropénicos”

“Systematic review of non-culture based diagnostic methods for invasive candidiasis in critically ill non neutropenic adult patients”

RESUMEN EN ESPAÑOL

Las infecciones invasoras por especies del genero *Candida* constituyen entidades en aumento en diferentes poblaciones específicas de pacientes. Una de estas poblaciones de pacientes en las que la candidiasis invasora ha mostrado un incremento progresivo en sus tasas de incidencia es la de los pacientes críticamente enfermos. El bajo rendimiento de los métodos microbiológicos dirigidos al aislamiento de este hongo en muestras biológicas ha llevado a la implementación sucesiva de técnicas sucedáneas, que detectan antígenos, metabolitos o anticuerpos relacionados con el patógeno y la respuesta del hospedero.

La detección y cuantificación de estos antígenos, anticuerpos y metabolitos en el escenario clínico muestra rendimientos operativos distintos, con valores más consistentes en las poblaciones de pacientes inmunocomprometidos.

El objetivo del presente estudio fue el de realizar una revisión sistemática de la literatura de métodos diagnósticos para candidiasis invasora, diferentes al cultivo, y dirigidos a la población de pacientes en cuidado crítico no neutropénicos.

Se realizó una revisión cualitativa de aquellos estudios que cumplieron con los criterios de selección y calidad, así como también meta-análisis de 4 estudios para la utilización del 1-3 β -D glucano en pacientes críticos quirúrgicos.

RESUMEN EN INGLES

Invasive infections by species of the genera *Candida* have become entities of growing incidence in specific patient populations. One of these groups of patients in whom invasive candidiasis has shown increasing incidence is critically ill patients. The low diagnostic yield of microbiological techniques that procure the isolation of this fungus in biological samples, has opened the use of other tests, detecting antigens, metabolites or antibodies related to the pathogen itself or the host immune response.

The detection and measurement of these antigens, antibodies and metabolites in clinical practice show different diagnostic yields, more consistent among immune compromised patients.

The objective of this study was to make a systematic review of the literature on non-culture based diagnostic tests for invasive candidiasis, specifically in critically ill non neutropenic patients.

A narrative review of those studies that fulfilled selection and quality criteria was made, and a meta-analysis was done including 4 articles with 1-3 β D glucan for diagnosis in critically ill surgical patients.

Palabras claves: Candidiasis invasora, candidiasis profunda, candidemia, diagnostico por laboratorio, unidad de cuidados intensivos.

Key words: invasive candidiasis, deep seated candidiasis, candidemia, laboratory diagnosis, intensive care unit.

FIRMA DEL DIRECTOR DE TRABAJO DE GRADO:

Nombre completo del autor (es) y (Año de nacimiento)

Alberto Fernando Buitrago Gutiérrez - 1980

A mi amada esposa Claudia,

A mis hijos: Julián, Isabella y
Santiago

Agradecimientos

Agradezco a mi esposa Claudia, a mis hijos y a mis padres por el apoyo decidido para completar mi programa de estudios, por el tiempo cedido para lograr este propósito.

Agradezco al profesor Carlos Saavedra, Infectólogo y director de este trabajo de grado, porque su insistencia en el proyecto fue un factor decisivo para llevarlo a buen recaudo.

Agradezco a todos los docentes del programa por sus valiosas enseñanzas y experiencias compartidas.

Resumen

Las infecciones invasoras por especies del género *Candida* constituyen una entidad en aumento en diferentes poblaciones específicas de pacientes. Una de estas poblaciones en la que la candidiasis invasora ha mostrado incremento progresivo en sus tasas de incidencia es en los pacientes críticos que requieren soporte y manejo en unidades de cuidados intensivos.

La utilización de métodos diagnósticos no basados en cultivo, que incluyen pruebas para la detección de antígenos específicos y no específicos del género, medición de anticuerpos contra elementos de la pared del hongo y la amplificación de ácidos nucleicos para detección e identificación de especie, han surgido como sucedáneos del aislamiento del hongo que permiten iniciar tratamiento temprano.

El objetivo de este estudio fue realizar una revisión sistemática de la literatura sobre los métodos diagnósticos no basados en cultivo para candidiasis invasora, candidiasis profunda y candidemia en la población de pacientes adultos críticos no neutropénicos.

Se realizó un meta análisis con los datos obtenidos de estudios que cumplieron los criterios de calidad, todos utilizando la prueba de medición del antígeno no específico (1-3) β -D-glucano en pacientes críticos quirúrgicos.

La sensibilidad calculada en este grupo de pacientes fluctuó entre el 51% al 60%, sin encontrar heterogeneidad entre los estudios. La especificidad mostro variabilidad significativa entre los estudios analizados, con valores entre el 66,7% y el 97,4%.

La utilización clínica del (1-3) β -D-glucano debe limitarse a grupos de pacientes de alto riesgo, probablemente como ayuda para descartar el diagnóstico de CI, su uso como biomarcador aislado es incierto.

Palabras clave: Candidiasis invasora, candidiasis profunda, candidemia, diagnóstico por laboratorio, unidad de cuidados intensivos.

Abstract

Invasive fungal infections caused by de genera *Candida* have shown increasing rates of incidence in different types of patients. One of these groups of patients that have shown increases in the rates of invasive candidiasis in that enclosing those in intensive care units.

As an alternative different diagnostic non-culture based diagnostic methods, which include assays for the detection of genera specific and non-specific antigens, detection and quantification of antibodies specifically against elements of the fungal cell wall, and detection with amplification of nucleic acids, have been introduced in clinical practice. All aiming at an early diagnosis of infection and proper treatment.

The main objective of this study was to do a systematic review of the literature regarding non-culture based methods for the diagnosis of invasive candidiasis, deep candidiasis and candidemia in the group of non-neutropenic adult critical care patients.

A meta-analysis was done with the final four articles obtained through the selection and quality criteria, most of them evaluating the (1-3) β -D-glucan in critical care surgical patients.

The calculated sensitivity for this test ranged between 51% and 60%, without finding heterogeneity in the studies included. The specificity showed significant variability with values between 66,7% and 97,4%.

The clinical use of the (1-3) β -D-glucan should be well circumscribed to high risk patient groups, being an aid in discarding invasive candidiasis along a well structured clinical approach. Its isolated use as a biomarker in critically ill patients remains unclear.

Key words: invasive candidiasis, deep seated candidiasis, candidemia, laboratory diagnosis, intensive care unit

Tabla de Contenido

Resumen	IX
Abstract	X
Lista de figuras y gráficas	XIII
Introducción	1
1. Marco Teórico.....	3
1.1. Generalidades	3
1.2. Métodos diagnósticos en infecciones por Candida spp.....	4
1.2.1. Metabolitos.....	5
1.2.2. Antígeno manano y anticuerpos anti-manano.....	5
1.2.3. Anticuer (1)pos contra el tubo germinal de Candida albicans.....	6
1.3. Revisiones sistemáticas de diagnostico en candidiasis invasora de pacientes en UCI	8
1.4. Candidiasis invasora en Cuidado intensivo.....	9
2. Problema	15
3. Justificación.....	17
4. Objetivos	19
4.1. Objetivo general.....	19
4.2. Objetivos específicos:.....	20
5. Metodología.....	21
5.1. Tipos de estudios:.....	21
5.2. Definiciones:.....	21

Revisión sistemática de los métodos diagnósticos no basados en cultivo para candidiasis invasora en pacientes adultos no neutropénicos críticamente enfermos

5.3. Método de búsqueda	22
5.4. Tipos de participantes:.....	23
5.5. Aspectos éticos:	24
6. Resultados.....	25
6.1. Revisión cualitativa de los estudios seleccionados:.....	25
6.2. Metanálisis de estudios con (1-3) β -D-glucano	32
7. Discusión.....	40
BIBLIOGRAFIA.....	47

Lista de figuras y gráficas

Figura 6-1. Forest plot para sensibilidad	34
Figura 6-2. Florest plot para valores de especificidad	35
Figura 6-3. Forest plot para Odds ratio diagnóstico.....	38
Gráfica 6-1. Sensibilidad/tasa de falsos positivos	36
Grafica 6-2. ROC eclipse	37
Grafica 6-3. Flujograma de selección de artículos.....	44

Lista de tablas

Tabla 1-1. Estudios preliminares.....	11
Tabla 6-1. Candidiasis invasora.....	32
Tabla 6-2. Odds Ratio Diagnostico-LR (+) y LR (-).....	33
Tabla 7-1. Estudios incluidos con utilización del antígeno panfungico 1-3 Beta-D-glucacno.....	43
Tabla 7-2. Estudios que utilizaron reacción en cadena de la polimerasa	45

Introducción

La implementación de mejoras tecnológicas en los escenarios de atención de pacientes en estado crítico ha llevado a un incremento en la supervivencia de grupos de pacientes con condiciones de susceptibilidad a patógenos usualmente oportunistas e infrecuentes.

Poblaciones de pacientes como aquellos sometidos a terapias oncológicas con quimioterapia, trasplantados de médula ósea u órganos sólidos, individuos con infección por el virus de la inmunodeficiencia humana, se han convertido en visitantes frecuentes de las unidades de cuidados intensivos, en las que deben ser sometidos a elementos de monitoria invasiva, procedimientos quirúrgicos y esquemas de tratamiento farmacológico que ineludiblemente incluyen antibióticos de espectros variados.

Es en estos casos en los que las infecciones fúngicas invasoras cobran gran importancia como agentes de enfermedades infecciosas, algunas con altas tasas de mortalidad. De manera consecuente la literatura médica acumulada ha permitido plantear escenarios particulares en los que la utilización de tratamientos anti fúngicos profilácticos, empíricos o anticipados reduce el impacto negativo en la morbi-mortalidad.

Igualmente hemos visto como aquellos pacientes, que en principio se consideraron competentes desde el punto de vista inmunológico, bajo condiciones prolongadas de soporte en cuidado crítico, y sometidos a esos mismos factores de riesgo, desarrollaron infecciones por otros patógenos microbianos diferentes a la bacterias, dentro de ellos los hongos y los agentes virales.

El género *Candida spp* corresponde a uno de estos agentes infecciosos cuya prevalencia ha venido en aumento en estas poblaciones de pacientes, generando un impacto significativo en tasas de morbi-mortalidad, prolongación de la estancia hospitalaria y costos mayores por consumo de anti fúngicos.

Los esfuerzos en estudios clínicos recientes, reconociendo la importancia de diagnosticar de manera temprana las infecciones causadas por este hongo en particular, ha llevado al desarrollo de herramientas diagnosticas alternativas, sucedáneas del aislamiento microbiológico, para tomar decisiones de tratamiento mucho más precoces.

Revisión sistemática de los métodos diagnósticos no basados en cultivo para candidiasis invasora en pacientes adultos no neutropénicos críticamente enfermos

Dentro de los indicadores de infección evaluados, se encuentra la detección de antígenos propios del hongo, de anticuerpos generados como parte de la respuesta inmunológica del hospedero, así como también de metabolitos producidos por el hongo que son excretados por el hospedero a través de fluidos como la orina.

El rendimiento operativo de las diferentes pruebas ha sido evaluado en esos grupos de pacientes mencionados al principio, sin embargo se han observado diferencias en relación al grupo de pacientes críticos inmunocompetentes y no neutropénicos.

Es importante definir la utilidad real de los diferentes marcadores de infección para decidir cuál de las distintas pruebas de laboratorio puede aportar más al diagnóstico de un paciente que requiere de una pronta intervención terapéutica.

La comparación del rendimiento diagnóstico de diferentes pruebas de laboratorio en este escenario nos permite discriminar cuál de todas las disponibles en nuestro medio determina una mayor probabilidad de infección fúngica invasora por *Candida spp.*

El propósito de este trabajo fue el de evaluar la literatura disponible con respecto a la utilización de pruebas microbiológicas diferentes al aislamiento en cultivo para el diagnóstico de las infecciones invasoras por el género *Candida spp* en la población de pacientes adultos críticamente enfermos no neutropénico.

1. Marco Teórico

1.1. Generalidades

La *Candida* es un hongo ubicuo, con 200 especies identificadas hasta el momento, de las cuales aproximadamente el 10% han sido descritas en procesos infecciosos afectando a seres humanos.

Las candidemias se considera representan cerca del 10-20% de todas las candidiasis, datos de los Estados Unidos informan entre 1990-1999 en una muestra tomada de 790 Unidades de Cuidado Intensivo, la presencia de *Candida spp.* en 5-10% de todas las infecciones nosocomiales. Siendo responsable en cuarto lugar de infecciones del torrente sanguíneo, detrás de los *Staphylococcus coagulasa* negativos, *Staphylococcus aureus* y *Enterococcus spp* ¹.

En un estudio colombiano publicado por Cortes y colaboradores, se describieron las características epidemiológicas de las infecciones del torrente sanguíneo de etiología fúngica en hospitales de tercer nivel de atención. En un periodo de 6 años, se obtuvieron los resultados de 45.026 hemocultivos de 27 hospitales de referencia, de estos el 39,3% provino de servicios de cuidado intensivo.

Para la totalidad de los hemocultivos evaluados, se identificaron infecciones del torrente sanguíneo causadas por hongos en el 4,1% de los casos, y 49,8% de los aislamientos de hongos se hicieron de muestras en cuidado intensivo. El género más frecuentemente aislado, con el 87,8% del total de los aislamientos fúngicos fue *Candida spp.* En el subgrupo de muestras procedentes de cuidado intensivo con aislamiento de hongos la *Candida* represento el 92,2% ². La especie de *Candida* más frecuente fue *Candida albicans*, aislada en el 54,1% de los casos correspondientes a candidemia ².

En general a nivel mundial, además de la preponderancia de *Candida albicans* como la especie más frecuente en infección fúngica invasora en la población de pacientes en cuidado crítico, 3 especies adicionales se consideran responsables de la mayoría de los casos de candidiasis invasora y candidemia, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* y *Candida tropicalis* ³.

La sospecha clínica de infecciones invasivas por *Candida spp* en el escenario de cuidado intensivo usualmente involucra pacientes con condiciones y circunstancias específicas, como estancias prolongadas, requerimiento de procedimientos y monitoria invasiva, ciclos de antibióticos de amplio espectro y estados de inmunosupresión. Todo este contexto dificulta el proceso diagnóstico llevando a inicios tardíos de la terapia con implicaciones en la sobrevivencia de los pacientes.

1.2. Métodos diagnósticos en infecciones por *Candida spp*

El abordaje diagnóstico en las infecciones por *Candida spp* sigue lineamientos similares a los de otros tipos de infecciones, en los que las claves diagnósticas son importantes para decidir la búsqueda del hongo como agente etiológico; la presencia de fiebre no explicada o sepsis asociados a la presencia en el examen físico de lesiones cutáneas, abscesos musculares o endoftalmitis deben hacer considerar este patógeno dentro de los diagnósticos diferenciales.

La búsqueda específica del patógeno determina la utilización de estudios de microscopia directa y cultivos de diferentes muestras como las primeras herramientas para obtener el aislamiento del hongo.

Los hemocultivos tomados en pacientes con sospecha de candidiasis invasora ofrecen un rendimiento diagnóstico del 50 al 70% solamente, incluso con la implementación de métodos de aislamiento especiales, en hemocultivos para gérmenes comunes el rendimiento es menor del 30% ⁴⁻⁵. Adicionalmente y dadas las condiciones usuales de estas poblaciones de pacientes la realización de procedimientos para la obtención de muestras tisulares y biopsias en función de un diagnóstico histopatológico no es viable.

En uso clínico, aunque no disponibles en todos los escenarios de práctica se han evaluado métodos diagnósticos para confirmar la presencia de infección por *Candida*, algunos dirigidos a la detección de antígenos relacionados con la estructura celular de este patógeno y otros sustentados en la detección de la respuesta inmunológica generada por el hospedero como respuesta a la infección.

La utilización de estos marcadores de respuesta inmunológica frente al patógeno o de los antígenos relacionados con el mismo, se ha desarrollado con el objetivo de lograr indicadores sucedáneos de la infección de manera precoz, permitiendo así el inicio de tratamientos anticipados o tempranos ⁶.

Dentro de los estudios no basados en cultivo del hongo se describen en la literatura el antígeno manano de la superficie celular y el (1,3) Beta-D-glucano, la detección de metabolitos del hongo como el D-arabinitol, la detección de anticuerpos contra el micelio de la *Candida* o prueba de anticuerpos contra el tubo germinal y las pruebas de reacción en cadena la polimerasa ⁶⁻⁷⁻⁸⁻¹⁵⁻¹⁶.

1.2.1. Metabolitos

El D-arabinitol es un metabolito producido en cantidades importantes por la *Candida*, y ha sido detectado tanto a nivel de cultivos como durante los procesos infecciosos ⁹.

Se ha destacado además en los estudios que describieron la utilización de este metabolito para el diagnóstico de las infecciones por *Candida*, que la *C. glabrata* ni la *C. Krusei* lo producen ⁹.

La mayoría de los estudios que han buscado la correlación de los niveles elevados de D-arabinitol con la presencia de candidiasis invasora han sido realizados en población pediátrica y de adultos con patología oncológica y neutropenia ¹⁰⁻¹¹.

Walsh y colaboradores encontraron en un estudio multicéntrico prospectivo que incluyó pacientes oncológicos, neutropénicos de altos riesgo y llevados a trasplante de médula ósea, como el 74% mostraron relaciones de D-arabinitol/creatinina elevados que se correlacionaron con el diagnóstico de candidiasis invasora ¹⁰.

La medición de este metabolito a nivel de pacientes no neutropénicos post quirúrgicos no mostro la misma sensibilidad ¹², y son escasos los datos relacionados con la población del pacientes críticamente enfermos.

1.2.2. Antígeno manano y anticuerpos anti-manano

El antígeno manano corresponde a uno de los principales componentes de la pared de los hongos del género *Candida*, constituyendo quizás hasta el 7% del peso seco total de la célula ¹³. Durante los procesos infecciones por este hongo, el antígeno manano es liberado a nivel sanguíneo, con un tiempo de aclaramiento rápido relacionado con la aparición asociada de los anticuerpos anti-manano ¹³.

La observación de la cinética del antígeno en relación a la aparición de los anticuerpos a nivel sérico ha llevado a cambios en la utilización de la prueba antigénica aislada, a la detección del antígeno en conjunto con los anticuerpos para obtener un mejor rendimiento diagnóstico ¹³⁻¹⁴. Existen también casas comerciales que desarrollaron progresivamente la prueba, como la prueba de aglutinación con látex CandiTec® (Laboratorios Ramco) y la prueba de doble sándwich enzimática Platelia *Candida*® ¹⁵.

Los estudios a partir de poblaciones de pacientes hematológicos han mostrado que al implementar las mediciones del antígeno aislado los valores de sensibilidad obtenidos pueden ser incluso de <50%, cuando se utilizaron los anticuerpos combinados con la detección del antígeno manano la sensibilidad mejoraba hasta el 89%, con una especificidad entre 80-90% ¹³⁻¹⁴.

1.2.3. Anticuerpos contra el tubo germinal de *Candida albicans*

Ha sido desarrollada también una prueba por inmunofluorescencia indirecta para la detección de anticuerpos contra la estructura micelial de la *C. albicans* ¹⁷.

Esta prueba (CAGTA) detecta anticuerpos dirigidos al tubo germinal del hongo, y ha sido utilizada en poblaciones de pacientes de cuidados intensivos, trasplante de medula ósea y neoplasias hematológicas ¹⁸⁻¹⁹.

La sensibilidad informada a partir de estos estudios fue del 77% al 89% con una especificidad más alta del 91% al 100% ¹⁸⁻¹⁹. A pesar de que las características operativas impresionan aceptables, se considera que aun la experiencia y evidencia disponibles son limitadas.

1.2.4. *Antígeno pan-fúngico*, (1-3) β -D-Glucano

El beta-D Glucano es un componente de la pared celular de la mayoría de los hongos, con dos excepciones principales de relevancia clínica que son los Zigomicetos y *Cryptococcus spp* ²⁰⁻²¹⁻²²⁻²³.

La detección del antígeno (1-3) β -D-glucano a nivel del torrente sanguíneo ha sido utilizada como sucedáneo de infección fúngica invasora, sin embargo el antígeno no tiene un carácter inmunogénico y por lo tanto el componente de respuesta inmune del hospedero no puede ser evaluado ²¹.

Diferentes estudios evaluando el rendimiento operativo del Beta-D-glucano en infección fúngica invasora han mostrado sensibilidades entre el 69-97% con especificidades del 87 al 100%, con valores predictivos positivos del 59 al 96% y valores predictivos negativos en rangos del 75 al 97% ⁷⁻⁸⁻¹⁶⁻²⁰⁻²¹.

La prueba comercial Fungitell BG® se basa en la detección colorimétrica indirecta del antígeno, y se encuentra aprobada por la FDA en los Estados Unidos para la medición de las concentraciones séricas del antígeno. La detección indirecta del antígeno en esta prueba en particular se hace a través de la activación de un grupo de proteínas de la cascada de coagulación del cangrejo herradura ²¹.

El (1-3) β -D-glucano ha sido también detectado en pacientes con infecciones fúngicas invasoras por agentes etiológicos de otros géneros como *Fusarium*, *Trichosporon*, *Acremonium*, *Pneumocystis* y *Saccharomyces* ²¹⁻²²⁻²³.

La presencia del (1-3) β -D-glucano en el ambiente ha sido determinante en la confiabilidad dudosa de la prueba, al estar ligada a una adecuada manipulación y mínima contaminación. Se han asociado a falsos positivos ciertos tipos de gases, la bacteriemia por bacterias gram positivas, la administración a los pacientes de inmunoglobulinas y albumina, e incluso la exposición sanguínea a membranas de celulosa utilizadas durante la hemodiálisis ²¹⁻²²⁻²³.

Las recomendaciones para la utilización del (1-3) β -D-glucano indican la toma de dos mediciones semanales para tener un mejor seguimiento ²⁴.

Phalagas y colaboradores realizaron un meta análisis de estudios diagnósticos con la utilización del (1-3) β -D-glucano, con una selección de estudios de cohorte y casos más controles. Revisaron una población heterogénea de pacientes que incluyó adultos y pediátricos, con patología oncológica hematológica, receptores de trasplante y neutropénicos ²⁵.

Compararon la medición de Beta-D glucano entre pacientes con infección probable y probada de acuerdo a los criterios EORTC/MSG, con un total de 2979 pacientes encontraron una sensibilidad global del 76,8% (IC 95% 67,1%-84,3%) y una especificidad de 85,3% (IC 95% 79,6%-89,7%). Con un área bajo la curva ROC de 0,89, aunque encontraron marcada heterogeneidad estadística ²⁵.

1.2.5. *Reacción en cadena de la polimerasa para la detección de Candida spp*

La implementación de la detección y amplificación de ácidos nucleicos para candidemia se ha hecho en muestras diversas como suero, plasma, y sangre total ²³⁻²⁴⁻²⁶.

Diferentes aspectos de la realización de las pruebas de biología molecular han determinado problemas en reconocer su real impacto en el diagnóstico de la candidiasis invasora. Es así como la falta de estandarización en los procedimientos de extracción y amplificación, con diferentes kits comerciales para realizar la prueba; la presencia de reacciones cruzadas incluso con patógenos bacterianos, y la búsqueda de blancos de amplificación diversos como los genes ribosomales 5.8S, 18S y 28S, han generado rendimientos variables difíciles de interpretar tanto individualmente como en conjunto ²⁵⁻²⁶.

Uno de estos kits comerciales que ha tenido mayor resonancia para estudios recientes en pacientes sépticos en unidades de cuidados intensivos es el Light Cycler SeptiFast test® (Roche), que fue diseñado para la detección en sangre de 25 especies bacterias y fúngicas, con un tiempo de resultado de 6 horas ²⁶⁻²⁷.

Los estudios de validación de este kit para la detección de infección temprana piógena o fúngica mostraron una sensibilidad superior a la de los hemocultivos, con hallazgos como el de Lehmann y colaboradores que encontraron una sensibilidad del 69% y especificidad del 81% ²⁸.

1.3. Revisiones sistemáticas de diagnóstico en candidiasis invasora de pacientes en UCI

Cortes y colaboradores publicaron en el 2011 una revisión sistemática para identificar y revisar las publicaciones relacionadas con técnicas diagnósticas para candidemia en pacientes hospitalizados en unidad de cuidados intensivos ²⁹.

Realizaron una búsqueda con términos Mesh definidos, utilizando exclusivamente la base de datos de Pub Med, obteniendo con un proceso de selección mencionado en la publicación, un total de 4 estudios, 3 de ellos relacionados con la utilización del antígeno manano y los anticuerpos contra dicho antígeno, y un artículo en relación a la utilización de la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real para el diagnóstico de la candidemia en pacientes de cuidado intensivo ²⁹.

Los hallazgos informados de este estudio indican variabilidad en las diferentes pruebas de anticuerpos utilizadas, con técnicas de laboratorio y puntos de corte diferentes. Encontraron valores de sensibilidad para la detección de los anticuerpos entre el 36,1% y el 87,5%, con una especificidad del 82,6% (IC 95% = 74,4%-89%), sin que los datos fueran estadísticamente significativos ²⁹.

Informan un resultado de la Odds Ratio Diagnóstica (ORD) para candidemia con la utilización de las pruebas de detección de anticuerpos de 6,085 (IC 95% = 1,42-26,08).

En cuanto a la medición de la antigenemia (manano), encontraron una baja sensibilidad para el diagnóstico de candidemia, del 18% (IC 95%: 9,4%-30%), con una especificidad más significativa del 90,4% (IC 95% = 83,5%-95,1%). La Odds Ratio Diagnóstico para candidemia calculada fue de 1,51 (IC 95% = 0,032 – 70,964; p = 0,001) ²⁹.

Cuando analizaron dos estudios que evaluaban la utilización combinada de la antigenemia con la medición de anticuerpos encontraron una sensibilidad global de 96% (IC 95% = 79,6%-99,9%; p = 0,124) y una ORD de 49,697 (IC 95% = 6,43-383,94; p = 0,27).

Solamente en métodos de biología molecular con amplificación de ácidos nucleicos de *Candida spp*, se seleccionó el estudio de McMullan y cols, que utilizó reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real en pacientes críticos no neutropénicos, y que excluyendo un episodio de candidemia por *Candida Fumata* mostraba una sensibilidad del 90,9%, con especificidad del 100%, para 3 ensayos de PCR Taqman que se corrieron en paralelo ³⁰.

1.4. *Candidiasis invasora en Cuidado intensivo*

Las Unidades de Cuidado Intensivo alrededor del mundo han visto un incremento progresivo en los últimos años en la incidencia de infecciones por *Candida spp*, que han condicionado además mayores tasas de mortalidad, con una mortalidad atribuible entre diversos estudios en un rango del 5-71% y tasas crudas de mortalidad del 40% ³¹⁻³².

La detección temprana de aquellos pacientes con una mayor probabilidad de cursar con candidemia y/o candidiasis invasiva se puede ver reflejada en el inicio de una terapia anti fúngica anticipada, que a su vez, puede tener un impacto positivo en los desenlaces clínicos en este grupo de pacientes ³²⁻³³.

Dentro de los cuadros clínicos relacionados con *Candida spp*. En cuidado intensivo encontramos aquellos consideramos como claramente invasores como la candidemia, la candidiasis diseminada, el compromiso profundo de órgano y la endocarditis por este patógeno ³². Otras condiciones como la candiduria han mostrado correlación con la aparición de cuadros infecciosos invasores y sin embargo la decisión de tratarla sigue siendo controversial para los clínicos.

La prevalencia de candiduria en población sana ha sido descrita entre el 0-0,3%³⁴⁻³⁶, sin embargo este hallazgo cambia progresivamente hasta el 12-27%³⁵, para aislamientos de infecciones urinarias nosocomiales y a una prevalencia en diferentes poblaciones de pacientes críticamente enfermos del 19-44%³⁴⁻³⁶⁻³⁸.

1.4.1. Puntajes de riesgo de candidiasis invasora en cuidado intensivo

Diferentes autores a través de estudios observacionales y prospectivos, han delimitado una serie de factores de riesgo, que analizados bajo la estructura de puntajes, permiten predecir con rendimientos variables la posibilidad de que un paciente se encuentre cursando con una infección invasiva por *Candida spp* (Ver tabla No 1).

Utilizando un índice de colonización de >0,4 calculado de los sitios colonizados/cultivados para *Candida spp*, Piarroux y cols en un estudio con evaluación antes y después de intervención; utilizando un componente prospectivo y otro de una cohorte histórica demostraron una reducción al utilizar terapia anti fúngica anticipada de 2,2% a 0% de candidiasis probada.

Los autores concluyen que el uso de la terapia anticipada basada en el índice de colonización podía disminuir la incidencia de candidiasis probada en pacientes de una unidad de cuidado intensivo quirúrgica³⁹⁻⁴⁰.

Dentro de estos puntajes descritos, el puntaje de León y cols propone la utilización de condiciones como cirugía previa, sepsis severa, nutrición parenteral y colonización por *Candida spp* para calcular un valor numérico que define la mayor probabilidad de tener candidiasis invasiva.

El mismo grupo de León y cols, realizó un estudio posterior al planteamiento del “*Candida score*” para la identificación de pacientes de alto riesgo de candidiasis invasiva, con una cohorte multicéntrica prospectiva de pacientes en unidades de cuidados intensivos en España, Francia y Argentina, encontró que un puntaje de León <3 puntos se asoció a una tasa de candidiasis invasiva del 2,3% (IC 95% 1,06-3,54)⁴¹.

La literatura publicada sugiere la utilización de los puntajes diagnósticos en *Candida* como una potencial herramienta para identificar aquellos pacientes en cuidado intensivo que por su alto riesgo se benefician de terapia anti fúngica temprana sin un daño colateral significativo⁴²⁻⁴³.

Tabla 0-1. Estudios preliminares

AUTOR	AÑO	TIPO DE UCI	DISEÑO	PACIENTES	VARIABLES INDEPENDIENTES	PUNTAJE ESPECIAL
Pittet y col	1994	Quirúrgica	Cohorte retrospectivo un centro	29	Colonización por <i>Candida</i> APACHE II	Índice colonización de <i>Candida</i> > 0.5 Índice colonización <i>Candida</i> corregido > 0.4
Dupont y col	2003	Quirúrgica	Inicial: cohorte retrospectivo Validación: cohorte prospectivo	221 57	Femenino Peritonitis de TGI superior Falla cardiovascular intraoperatoria Terapia A/B previa por lo menos 48 horas previas al inicio de peritonitis	Por lo menos 3 factores = puntaje grado c
Michalopoulos y col	2003	cardio- Torácica	Prospectivo. Inicial: un centro Validación: dos centros	150 2087	Ventilación mecánica invasiva > a 10 días Infección bacteriana nosocomial bypass cardiopulmonar > a 120 minutos Diabetes mellitus	-
Piarroux y col	2004	Quirúrgica	Cohorte prospectiva Control: cohorte retrospectiva Histórica	478 455	Colonización por <i>Candida</i>	Índice colonización <i>Candida</i> corregido > 0.4

Tabla 1-1. (continuación)

Charles y col	2005	Médica	Cohorte prospectiva un centro	92	colonización de <i>Candida</i>	Índice colonización de <i>Candida</i> > 0.5
Paphitou y col	2005	Quirúrgica	Cohorte retrospectivo	327	Diabetes mellitus Inicio nuevo de hemodiálisis Nutrición parenteral total A/B de amplio espectro	puntaje positivo: cualquier combinación
León y col	2006	médico- Quirúrgica	Cohorte prospectivo Multicéntrico	1699	Colonización de <i>Candida</i> multisitio (+1.11) Cirugía (+0.997) Nutrición parenteral total (+0.908) Sepsis severa (+2.038)	Puntaje de <i>Candida</i> > 2.5
Ostrosky -Zeichner y col	2007	médico- Quirúrgica	Estudio retrospectivo Multicéntrico	2890	Criterios mayores: Estancia UCI > 4 días terapia A/B sistémica o presencia de catéter venoso central Criterios menores: nutrición parenteral total, cualquier diálisis, cualquier cirugía mayor, pancreatitis, uso de corticoides, uso de inmunosupresores	Puntaje positivo: 2 criterios mayores y por lo menos 2 criterios menores

Tabla 1-1. (continuación)

León y col	2009	médico- Quirúrgica	Cohorte prospectivo Multicéntrico	1107	Colonización de Candida multisitio (+1.0) Cirugía (+1.0) Nutrición parenteral total (+1.0) Sepsis severa (+2.0) (1, 3)-beta-D-glucan > 75 pg ml ⁻¹	puntaje para Candida > 3
Shorr y col	2009	Hospitalización de cuidado Agudo	Cohorte de derivación retrospectiva: multicéntrico Cohorte de validación: Multicéntrico	64 019 24 685	Edad <65 años Temperatura < 98° o alteración severa del estado mental Caquexia Hospitalización los 30 días previos Admitido a otra institución de salud Necesidad de ventilación mecánica	Puntaje de riesgo peso equivalente simple 0-6

TGI: tracto gastro intestinal

A/B:
antibióticoTomado y adaptado de Kratzer C, Graninger Wet al: Design and use of Candida scores at the intensive care unit, *Mycoses* 2011⁴³

2. Problema

La candidiasis invasora se ha venido consolidando con una patología de alta prevalencia en las unidades de cuidados intensivos, afectando no solo a aquellos pacientes con patologías de base que determinan un compromiso inmunológico significativo, sino también a pacientes en estado crítico sujetos a ciertas condiciones de soporte vital y tratamiento particulares.

El diagnóstico de esta patología ha sido históricamente difícil, dada la dependencia en el aislamiento del hongo en muestras de cultivo de diferentes fluidos corporales.

Dentro de las estrategias que han venido surgiendo para superar el pobre rendimiento ofrecido por los cultivos, se ha implementado la detección y cuantificación de marcadores sucedáneos o representativos de la infección, dentro de los que se incluyen antígenos con sus respectivos anticuerpos, antígenos no específicos, metabolitos del hongo y de manera más reciente detección por biología molecular de fragmentos del DNA fúngico.

Varios estudios en diferentes poblaciones de pacientes, como aquellos afectados por patologías neoplásicas han mostrado rendimientos diagnósticos relativamente homogéneos, sin embargo la población de pacientes críticos no oncológicos no muestra los mismos hallazgos.

Por lo tanto planteamos la necesidad de revisar la utilidad diagnóstica de los estudios diagnósticos no microbiológicos en pacientes críticos no neutropénicos a través de una revisión sistemática de la literatura.

3. Justificación

Los avances en las medidas de soporte vital avanzado para poblaciones específicas de pacientes han permitido un incremento en la supervivencia de estos grupos, que por sus patologías de base presentan un estado de susceptibilidad a patógenos como la *Cándida albicans*.

En el escenario de cuidado intensivo las estancias prolongadas, el uso de antibióticos de amplio espectro, y patologías como las oncológicas determinan un nicho particular para la aparición de infecciones como la candidiasis invasora o la candidemia que afectan notablemente el pronóstico vital de estos pacientes.

En el proceso de diagnóstico de la candidiasis invasora los diferentes estudios microbiológicos muestran rendimientos operativos que están lejos de ser óptimos, es por eso que desde un punto de vista clínico se han desarrollado estrategias que involucran la ponderación de una serie de factores de riesgo y sucedáneos microbiológicos para aproximar el riesgo probable de estar cursando con este proceso infeccioso e iniciar un tratamiento lo más temprano posible.

Dada la mortalidad atribuible relacionada con el diagnóstico de candidiasis invasora, descrita en algunos estudios hasta en el 40%, es importante evaluar el rendimiento operativo de aquellas pruebas no dependientes del aislamiento microbiológico de este agente patógeno, como equivalentes del mismo y que constituyen pruebas diagnósticas confiables para abordar desde el punto de vista terapéutico a estos pacientes.

El estudio de Cortes y colaboradores publicado en el año 2011 evaluó a través de una búsqueda sistemática en la base de datos Pub Med la evidencia disponible sobre métodos diagnósticos no basados en cultivo hasta el año 2010 aproximadamente, incluyendo en su análisis final 4 artículos, dentro de los que se incluyeron en su mayoría estudios sobre el uso del antígeno manano y los anticuerpos contra este antígeno.

El propósito de esta nueva revisión sistemática es evaluar la evidencia disponible con respecto a las pruebas no basadas en cultivo para el diagnóstico de candidiasis invasora, teniendo en cuenta la aparición de pruebas más recientes como la medición del (1-3) β -D Glucano y las relacionadas con la amplificación de ácidos nucleicos, fundamentalmente por reacción en cadena de la polimerasa.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Realizar una revisión sistemática de la literatura para determinar el rendimiento diagnóstico de las pruebas no microbiológicas, no basadas en cultivo, para la candidiasis invasora en pacientes adultos no neutropénicos críticamente enfermos.

4.2. *Objetivos específicos:*

Describir a través de la búsqueda sistemática en la literatura cuales métodos no microbiológicos han sido propuestos para el diagnóstico de candidiasis invasora en pacientes adultos no neutropénicos críticamente enfermos.

Evaluar cual de los métodos de laboratorio no basados en cultivo, estandarizados para el diagnóstico de la candidiasis invasora en la población de pacientes adultos no neutropénicos de unidad de cuidados intensivos muestra mejor rendimiento diagnóstico en la literatura.

Evaluar la presencia de heterogeneidad con los artículos originales obtenidos sobre pruebas de diagnóstico de laboratorio no basadas en cultivo para realización de un meta análisis de los datos obtenidos.

5. Metodología

5.1. Tipos de estudios:

Se incluyeron estudios que evaluaron la utilidad y el rendimiento diagnóstico de pruebas de laboratorio que no correspondan a cultivos, en pacientes adultos no neutropénicos de unidades de cuidado intensivo tanto médicas como quirúrgicas y mixtas.

La identificación de las pruebas de laboratorio a incluir en el análisis de los datos se desprende de la revisión sistemática de la literatura, con términos de búsqueda que incluyeron marcadores antigénicos, serológicos y de biología molecular.

Dentro de las pruebas de laboratorio se incluyeron la medición de antígenos no específicos con estudios de diagnóstico de infecciones del género en estudio, es decir *Candida spp*, y estudios con antígenos específicos del género, además se buscó dentro de los resultados estudios nuevos con respecto a la utilización de antígeno manano y medición de anticuerpos antimanano para la población definida, con el fin de determinar si era necesario un nuevo análisis con respecto a los resultados de Cortes y colaboradores publicados en el año 2011.

5.2. Definiciones:

Candidiasis invasora: Incluye candidemia y candidiasis profunda, que se definen como la recuperación microbiológica de *Candida spp* a partir de la sangre o de muestras estériles.

5.3. Método de búsqueda

5.3.1. Estrategia PICO

Población: Paciente críticamente enfermos, no neutropénicos, adultos.

Intervención: pruebas diagnosticas para candidiasis invasora: serológicas, moleculares, antigenemia.

Comparación: Resultados microbiológicos, aislamiento o no de *Candida spp* en sangre o muestras de líquidos estériles.

Desenlace: Sensibilidad y especificidad para el diagnostico de candidiasis invasora.

Con dicha estrategia se realizó una búsqueda de la literatura existente en las siguientes bases de datos: Pub Med, Embase, Scielo, y Lilacs.

Para la búsqueda a través de Pub Med desde el año 1966 al año 2012 con los siguientes términos Mesh:

((("candidiasis, invasiva"[MeSH Terms] OR "candida"[MeSH Terms]) OR "candidemia"[MeSH Terms]) OR "candidemia"[MeSH Terms]) OR "candidiasis"[MeSH Terms]: 49.110 articulos.

(((((("diagnosis"[MeSH Terms] OR "immunologic tests"[MeSH Terms]) OR "immunologic tests"[MeSH Terms]) OR "molecular biology"[MeSH Terms]) OR "biological markers"[MeSH Terms]) OR "nucleic acid amplification techniques"[MeSH Terms]) OR "mannans"[MeSH Terms]: 6.500.916

("intensive care units"[MeSH Terms] OR "intensive care units"[MeSH Terms]) OR "intensive care"[MeSH Terms]: 64.877 artículos

Búsqueda ((#3) AND #2) AND #1, que corresponden a los 3 ítem anteriores: 265 artículos.

En la búsqueda por Embase, que incluyeron las publicaciones desde el año 1980 hasta el año 2012 se utilizara los siguientes Emtree:

'invasive candidiasis'/exp OR 'candidiasis'/exp: 36.110 artículos.

'laboratory diagnosis'/exp OR 'molecular biology'/exp OR 'biological marker'/exp OR 'nucleic acid amplification'/exp OR 'serodiagnosis'/exp OR 'early diagnosis'/exp: 3.951.661

'intensive care unit'/exp OR 'intensive care'/exp: 437.023 artículos.

Se realizó intersección de las búsquedas descritas con el conector AND, obteniendo a partir de esta base de datos 298 artículos.

Búsqueda en la Biblioteca virtual de la salud-LILACS con los siguientes términos: “Candidiasis” o “candidiasis invasiva” y “diagnostico” y “unidad de cuidados intensivos”.

Búsqueda en la base de datos SCIELO regional con los términos de “Candidiasis” y “Candidiasis invasora” o “Candidiasis invasiva”.

Igualmente con selección de los artículos iniciales a través de la revisión por títulos y abstracts.

Adicionalmente se realizó búsqueda manual a través de las referencias obtenidas de los artículos de la escogencia inicial en las principales de bases de datos.

5.4. Tipos de participantes:

Se tuvieron en cuenta aquellos estudios que incluyeron pacientes adultos no neutropénicos, sin patología oncológica, con sospecha de infección fúngica invasora por *Candida spp.* en unidad de cuidados intensivos.

En cuanto a las intervenciones realizadas a los participantes, se incluirán dentro del análisis estudios con evaluación de pruebas microbiológicas no basadas en cultivo como la prueba de antígenos manano y anticuerpos anti manano, la medición de beta-D-glucano, y las pruebas basadas en detección de ácidos nucleicos o PCR (Polimerase Chain Reaction).

También se verificarán aquellos estudios en los que se realice diagnostico a los participantes a través del uso combinado de puntajes de riesgo y pruebas de laboratorio no basadas en cultivo.

5.5. Aspectos éticos:

El presente estudio se elaboro acorde a las normas locales, nacionales e internacionales de la investigación en seres humanos. Se considero de riesgo inferior al mínimo, no se realizaron intervenciones, la extracción de datos se realizo partir de la información publicada por cada uno de los autores de los estudios originales incluidos en el análisis final.

No se hicieron modificaciones ni ajustes a la información suministrada por los autores de los artículos originales para su evaluación y análisis conjunto en la revisión sistemática.

Extracción y análisis de datos:

Se tomaron los datos informados de los artículos originales, incluyendo para la revisión los resultados obtenidos por los diferentes autores con respecto al rendimiento operativo como pruebas diagnosticas.

Inicialmente se elaboro una revisión cualitativa de los 7 estudios que se consideraron adecuados para responder los objetivos de la revisión.

Posteriormente se realizo un meta-análisis para evaluar los resultados de la medición del (1-3) β -D- glucano en candidiasis invasora, con los 4 estudios que se consideraron aptos a través de la evaluación de calidad y la disponibilidad de la información.

Los datos se consolidaron en el programa estadístico R usando el paquete mada. Se realizó un meta-análisis para pruebas diagnósticas y se calculó el Odds Ratio, sensibilidad, especificidad, LR positivo y negativo.

La heterogeneidad de resultados se evaluó mediante la prueba de chi cuadrado y se realizo la prueba del coeficiente de correlación de Spearman (ρ) para los resultados.

6. Resultados

A través de la búsqueda sistemática de la literatura, con los criterios de inclusión referidos y encontrando en esta población específica de pacientes fundamentalmente estudios que evaluaron el rendimiento diagnóstico de la prueba de detección antigénico del (1-3) β -D-glucano y la prueba de reacción en cadena de la polimerasa (Ver tablas No. 2 y 3), Se procedió a realizar una revisión de los criterios de calidad en la escala QUADAS⁴⁴⁻⁴⁵ (Ver Anexos), para estudios de pruebas diagnósticas.

Dentro del proceso de selección de artículos no se encontraron estudios posteriores relevantes diferentes a los incluidos en la revisión y metaanálisis de Cortes y colaboradores del 2011 con respecto a la aplicación de anticuerpos anti manano y antígeno manano en la población objeto de esta revisión.

6.1. Revisión cualitativa de los estudios seleccionados:

“Takesue Y, Kakehashi M, Ohge H, Sueda T et al: “Combined assessment of β -D-Glucan and degree of Candida colonization before starting empiric therapy for candidiasis in surgical patients”⁴⁶

El objetivo de este estudio fue determinar si la combinación de la colonización por *Candida* y la medición del antígeno β -D-glucano eran de utilidad en seleccionar cuáles pacientes quirúrgicos se beneficiaban de terapia empírica con fluconazol antes del desarrollo de una infección invasora por *Candida*.

Criterios de inclusión de participantes: cirugía en los últimos 2 meses, colonización demostrada por *Candida spp* antes del reclutamiento, los sujetos tenían factores de riesgo para infección por *Candida*, habían presentado fiebre persistente a pesar del manejo con 3 o más antibióticos y fiebre con una duración de > 7 días.

Criterios de exclusión de los participantes: infección fungica invasora profunda documentada, uso de antifungicos 1 mes antes de la inclusion en el estudio, uso de polisacaridos antitumorales, embarazo, edad < 12 años, historia de alergia o anafilaxia a los agentes azoles antifungicos, recuento de neutrofilos < 500 x mm³, o expectativa de vida de menos de 72 horas.

Prueba diagnostica utilizada: Deteccion de (1-3) β -D-glucano a traves de Fungitec G test®.

Comparador: se realizaron cultivos de seguimiento para *Candida* a partir de multiples muestras biologicas.

Resultados: Se incluyeron un total de 81 pacientes, la positividad para el β -D-glucano fue un factor significativo de respuesta a azoles con un O.R de 12,92 (IC 95% 2.07-80.73). En pacientes con β -D-glucano positivo y colonizacion por *Candida*, el VPP fue de 46,9% y el VPN fue de 90,6%.

Financiacion: Sin datos.

“ Hanson KE, Pfeiffer CD, Lease ED, Balch AH, Zaas AK, Perfect JR, Alexander BD: β -D-Glucan surveillance with preemptive anidulafungin for invasive candidiasis in intensive care unit patients: a randomized pilot study. Plos one 2012; 7: 1-8”⁴⁷

El objetivo de este estudio fue el de evaluar la utilidad de la medicion bisemanal del β -D-glucano como guia para una terapia antifungica anticipada en pacientes de riesgo de unidades de cuidados intensivos.

Criterios de inclusion de los participantes: adultos >18 años, admitidos a UCI quirurgica o medica, hospitalizados en UCI minimo por 3 días, con expectativa de permanencia por 2 días adicionales.

Criterios de exclusión de participantes: intolerancia a las equinocandinas previamente conocida, niveles de transaminasas >10 veces el normal, suero icterico, receptores de trasplante de pulmon, mujeres en embarazo y lactancia, terapia antifungica dentro de la semana precedente a la inclusion, infección fungica invasora documentada de base.

Prueba diagnostica utilizada: Deteccion de (1-3) β -D-glucano con Fungitell®.

Comparador: Candidiasis invasora probable o probada de acuerdo a los criterios EORTC/MSG, que incluyen hemocultivos positivos para *Candida spp*, cultivo de sitio esteril positivo para *Candida*, histopatologia compatible con candidiasis invasora.

Resultados: 64 pacientes participaron y fueron aleatorizados a vigilancia con β -D-glucano un total de 47 pacientes. Con un punto de corte de >60 pg/ml se calculo una sensibilidad del 100%, especificidad del 50%, VPP del 17,6%, VPN del 100%. Con un punto de corte de >80 pg/ml, la sensibilidad fue del 100%, especificidad del 75%, VPP 30% y VPN del 100%.

Financiacion: soporte de Pfizer Inc con el salario de los coordinadores del estudio.

“ Posteraro B, De Pascale G, Tumbarello M, Torelli R, Pennisi MA, Bello G, Maviglia R, Fadda G, Sanguinetti M, Antonelli M: Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1-3) β -D-Glucan assay, Candida score, and colonization index. Critical Care 2011; 15: R249” ⁴⁸

El objetivo de este estudio fue el de comparar el valor diagnostico de el Candida score, el indice de colonizacion y la deteccion del (1-3) β -D-Glucano en una cohorte prospectiva de pacientes en UCI en riesgo de sepsis por *Candida*.

Criterios de inclusion de los participantes: pacientes adultos admitidos consecutivamente a la UCI, con tiempo de estancia >5 dias, sin diagnostico previo o tratamiento para infeccion fungica invasora, y con recuento de neutrofilos >500 x mm³.

Criterios de exclusion de los participantes: Sin datos.

Prueba diagnostica utilizada: Deteccion de (1-3) β -D-glucano con Fungitell®.

Comparador: Candidiasis invasora probable o probada de acuerdo a los criterios EORTC/MSG, que incluyen hemocultivos positivos para *Candida spp*, cultivo de sitio esteril positivo para *Candida*, histopatologia compatible con candidiasis invasora.

Resultados: Medición de (1-3) β -D-glucano mostro una sensibilidad de 92,9%, contra 85,7% del Candida Score y 64,3% del índice de colonización. Especificidad del 93,7% para el (1-3) β -D-glucano, 88,6% del Candida score y 69,7% del índice de colonización. El área bajo la curva ROC fue de 0,98 para la medicion del (1-3) β -D-glucano, 0,80 para el Candida score y 0,63 para el índice de colonización, con un grado de acuerdo entre el BG y el Candida score de 0,53 (kappa) y del BG con el índice de colonización de 0,10.

Financiacion: Los autores declaran no tener conflicto de intereses, no se mencionan fuentes de financiacion.

“ Mohr JF, Sims C, Paetznick V, Rodriguez J, Finkelman MA, Ostrosky-Zeichner R, Ostrosky-Zeichner L et al: Prospective survey of (1-3) β -D-glucan and its relationship to invasive candidiasis in the surgical intensive care unit setting. Journ of Clin Microbiol 2011; 49: 58-61” ⁴⁹

El objetivo de este estudio fue determinar si la medición seriada del (1-3) β -D-glucano proveía soporte de laboratorio para el diagnóstico clínico de candidiasis invasora en pacientes quirúrgicos de alto riesgo en UCI.

Criterios de inclusion de los participantes: Paciente adultos que ingresaban a la UCI quirúrgica por un mínimo de estancia de 48 horas, con expectativa de permanencia por 3 días más.

Criterios de exclusion de los participantes: sin datos.

Prueba diagnostica utilizada: Detección de (1-3) β -D-glucano con Fungitell®.

Comparador: definiciones clínicas para infección invasora por *Candida spp* posible, probable y probada.

Resultados: En el momento del diagnóstico clínico de la candidiasis invasora la sensibilidad de un (1-3) β -D-glucano positivo fue de 87% y la especificidad fue del 73%.

Financiación: los autores declaran recibir fondos de Associates of Cape Cod Inc. (Productores de Fungitell®).

*“ Acosta J, Catalan M, Montejo JC, Finkelman MA et al: Prospective study in critically ill non-neutropenic patients: diagnostic potential of (1-3) β -D-glucan assay and circulating galactomannan for the diagnosis of invasive fungal disease. Eur Jour Clin Microbiol Infect Dis 2012; 31: 721-31.”*⁵⁰

El objetivo de este estudio fue el de evaluar y comparar el rendimiento diagnóstico del galactomanano sérico y el (1-3) β -D-glucano como herramientas asociadas en infección fúngica invasora probable y probada, en una cohorte de pacientes críticamente enfermos, no neutropénicos, en riesgo de IFI, de un centro único.

Criterios de inclusion de los participantes: Pacientes adultos en UCI, identificados en alto riesgo de infección fúngica invasora a través de los criterios de Ostrosky-Zeichner, después de permanecer 4 días en UCI.

Criterios de exclusion de los participantes: sin datos.

Prueba diagnostica utilizada: Detección de (1-3) β -D-glucano con Fungitell®.

Comparador: Diagnóstico clínico de infección fúngica invasora probable o probada por *Candida spp* y *Aspergillus spp*.

Resultados: En toda la población el mejor rendimiento diagnóstico para el (1-3) β -D-glucano se obtuvo con un punto de corte de positividad de >80 pg/ml, en la exactitud diagnóstica el área bajo la curva del (1-3) β -D-glucano para candidiasis invasora fue de 0,605 (IC 95% 0,387-0,823).

Financiación: Fondos del Fondo de Investigación Sanitaria del Instituto de Salud Carlos III, departamento de educación, universidades e investigación del País Vasco. M. Finkelman es empleado de Associates of Cape Cod Inc, que produce Fungitell®.

“Leon C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Castro C, Ubeda A, Fariñas O et al: Value of β -D-glucan and Candida albicans germ tube antibody for discriminating between Candida colonization and invasive candidiasis in patients with severe abdominal conditions. Intensive Care Med 2012; 38: 1315-25”⁵¹.

El objetivo de este estudio fue el de explorar la exactitud diagnóstica de los siguientes biomarcadores: β -D-glucano, anticuerpos contra tubo germinal (CAGTA), proteína C reactiva, procalcitonina, en combinación algunos, para discriminar entre la colonización por *Candida* spp y la candidiasis invasora en pacientes críticamente enfermos, no neutropénicos con condiciones abdominales severas.

Criterios de inclusión de los participantes: Pacientes adultos >18 años, con estadios en UCI esperada de por lo menos 7 días.

Criterios de exclusión de los participantes: pacientes con neutropenia definida por un recuento de neutrófilos < 1000 x mm³.

Prueba diagnóstica utilizada: Detección de (1-3) β -D-glucano, no se especifica prueba comercial.

Comparador: Diagnóstico de candidiasis invasora establecido en presencia de candidemia, cultivos de fluidos estériles positivos para *Candida*, examen oftalmológico positivo para endoftalmitis candidiasica e histopatología compatible con infección invasora por *Candida*.

Resultados: 176 pacientes incluidos en el análisis, el punto de corte de >80 pg/ml para el (1-3) β -D-glucano mostró sensibilidad de 67,7%, especificidad de 82,1%, VPP de 35,5% y VPN de 82,1%.

Financiación: el trabajo recibió fondos de Astellas Pharma S.A. León C recibe fondos de Merck, Astellas, Gilead y Pfizer.

“Nguyen MH, Wissel MC, Shields RK, Salomoni MA, Hao B, Clancy CJ et al: Performance of Candida Real-time polymerase chain reaction, β -D-glucan assay, and blood cultures in the diagnosis of invasive candidiasis. Clin Infec Dis 2012; 54: 1240-8”⁵²

El proposito del estudio fue el de comparar el rendimiento de una prueba de PCR de tiempo real validada por laboratorios Viracor-IBT, con la prueba de β -D-glucano Fungitell® y los hemocultivos para diagnosticas candidiasis invasora.

Criterios de inclusion de los participantes: pacientes con candidemia, candidemia asociada a cateter, candidiasis profunda.

Criterios de exclusion de los participantes: sin datos.

Pruebas diagnosticas evaluadas: Deteccion de (1-3) β -D-glucano con Fungitell® y reaccion en cadena de la polimerasa en tiempo real para *Candida* laboratorios Viracor-IBT.

Comparador: Se tomaron pacientes con confirmacion microbiologica del diagnostico de candidiasis invasora y controles con candidiasis de mucosas.

Resultados: La sensibilidad ya sea de el Beta-D-Glucano o de la PCR en tiempo real para diagnosticar candidiasis invasora fue de 95% y la especificidad fue de 56%. El grado de acuerdo entre la determinacion de la especie de *Candida* por cultivo y por PCR fue del 45%.

Financiacion: el trabajo fue patrocinado por fondos del laboratorio Viracor-IBT. Algunos de los autores informaron patrocinios de Pfizer, Merck, CSL Behring y Biotherapies for life.

“ Mc Mullan R, Metwally L, Coyle PV, Hedderwick S, McCloskey B, O’Neill Hay RJ et al: A prospective clinical trial of a real time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of candidemia in non-neutropenic, critically ill adults. Clin Infec Dis 2008; 46: 890-6.”³⁰

El proposito de este estudio fue el de evaluar el rendimiento de 3 ensayos de PCR en tiempo real para detectar especies de *Candida* comunes, en muestras clinicas. Con una poblacion blanco de criticamente enfermos, no neutropenicos.

Criterios de inclusion de los participantes: pacientes consecutivos con permanencia en UCI de >72 horas.

Resultados

Criterios de exclusion de los participantes: expectativa de egreso de la UCI antes del tiempo definido, retiro del tratamiento activo dentro de las 24 horas de la inclusion, neutropenia, manejo antifungico al momento de la inclusion o en los 14 dias previos.

Prueba diagnostica utilizada: PCR en tiempo real con diferentes partidores para diferenciacion por especie. Taq Man.

Resultados: a partir de los pacientes a los cuales les fueron tomadas las muestras, sensibilidad del 87%, especificidad del 100%. VPP del 100% y VPN del 99,6%.

Financiacion: El estudio fue financiado por la oficina de desarrollo e investigacion de servicios sociales personales y salud de Irlanda del Norte.

6.2. Metanálisis de estudios con (1-3) β -D-glucano

Se tomaron 4 de los estudios que analizaron la utilización del antígeno (1-3) β -D-glucano y se introdujeron los datos relacionados con el rendimiento operativo de la prueba, se procesaron en el paquete estadístico R, obteniendo los siguientes resultados.

Tabla 6-1. Candidiasis invasora

		IC			IC	
	SENSIBILIDAD	2.50%	97.50%	ESPECIFICIDAD	2.50%	97.50%
Leon	0.516	0.348	0.68	0.869	0.781	0.925
Takesue	0.538	0.355	0.712	0.974	0.868	0.995
Mohr	0.6	0.357	0.802	0.667	0.516	0.79
Nguyen	0.564	0.433	0.686	0.726	0.614	0.815

```

Test for equality of sensitivities:
X-squared = 0.35, df = 3, p-value = 0.95
Test for equality of specificities:
X-squared = 17.4542, df = 3, p-value = 0.00057

```

La prueba de chi cuadrado para sensibilidad no mostro diferencia es decir no hay heterogeneidad, para especificidad el valor de p (0.00057) muestra que se encuentra heterogeneidad.

Tabla 6-2. Odds Ratio Diagnostico-LR (+) y LR (-)

	DOR	IC		LR +	IC		LR -	IC	
		2.50%	97.50%		2.50%	97.50%		2.50%	97.50%
Leon	7.079	2.744	18.261	3.941	2.062	7.533	0.557	0.383	0.808
Takesue	44.333	5.268	373.073	21	2.937	150.153	0.474	0.312	0.72
Mohr	3	0.889	10.121	1.8	0.993	3.262	0.6	0.311	1.156
Nguyen	3.423	1.632	7.179	2.057	1.325	3.194	0.601	0.431	0.837

Correlation of sensitivities and false positive rates:

rho 2.5 % 97.5 %
0.812 -0.679 0.996

Se encuentra una correlación de 0.812 (alta) con intervalos de confianza (-0.679-0.996) para sensibilidad y tasas de falsos positivos.

El análisis de los valores de sensibilidad obtenidos mostro que no habia heterogeneidad, mientras si se encontro heterogeneidad con un valor de chi cuadrado de 17,45 ($p = 0,00057$) para los valores de especificidad.

Se observa el forest plot para sensibilidad (Figura No.1)

Figura 6-1. Forest plot para sensibilidad

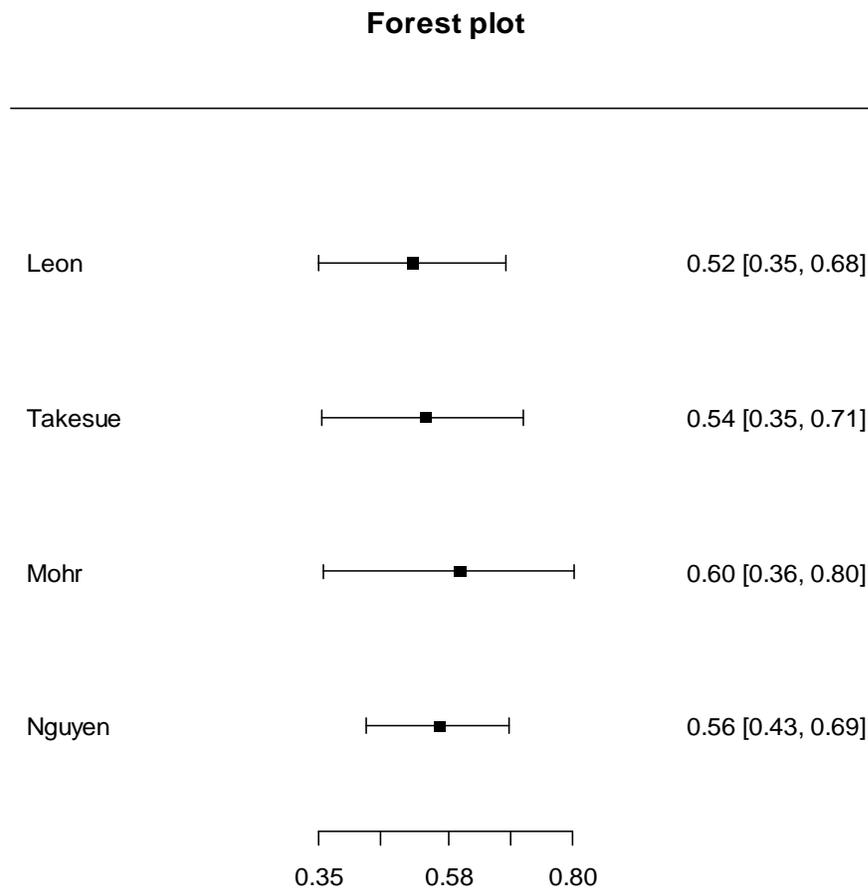
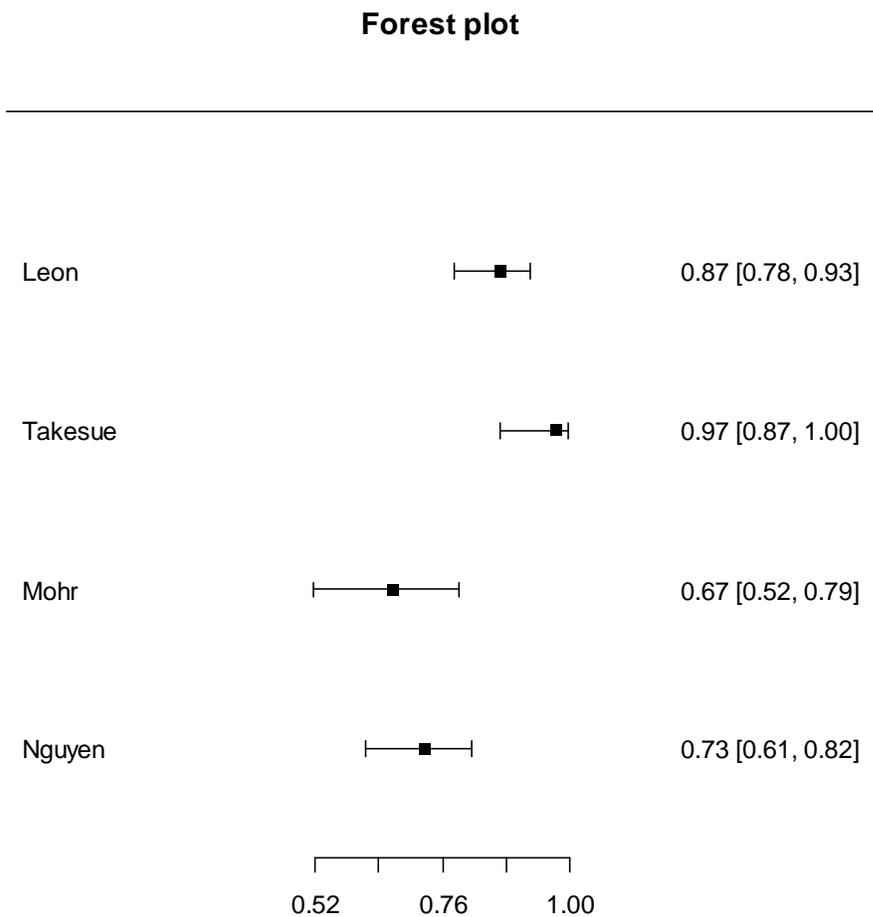
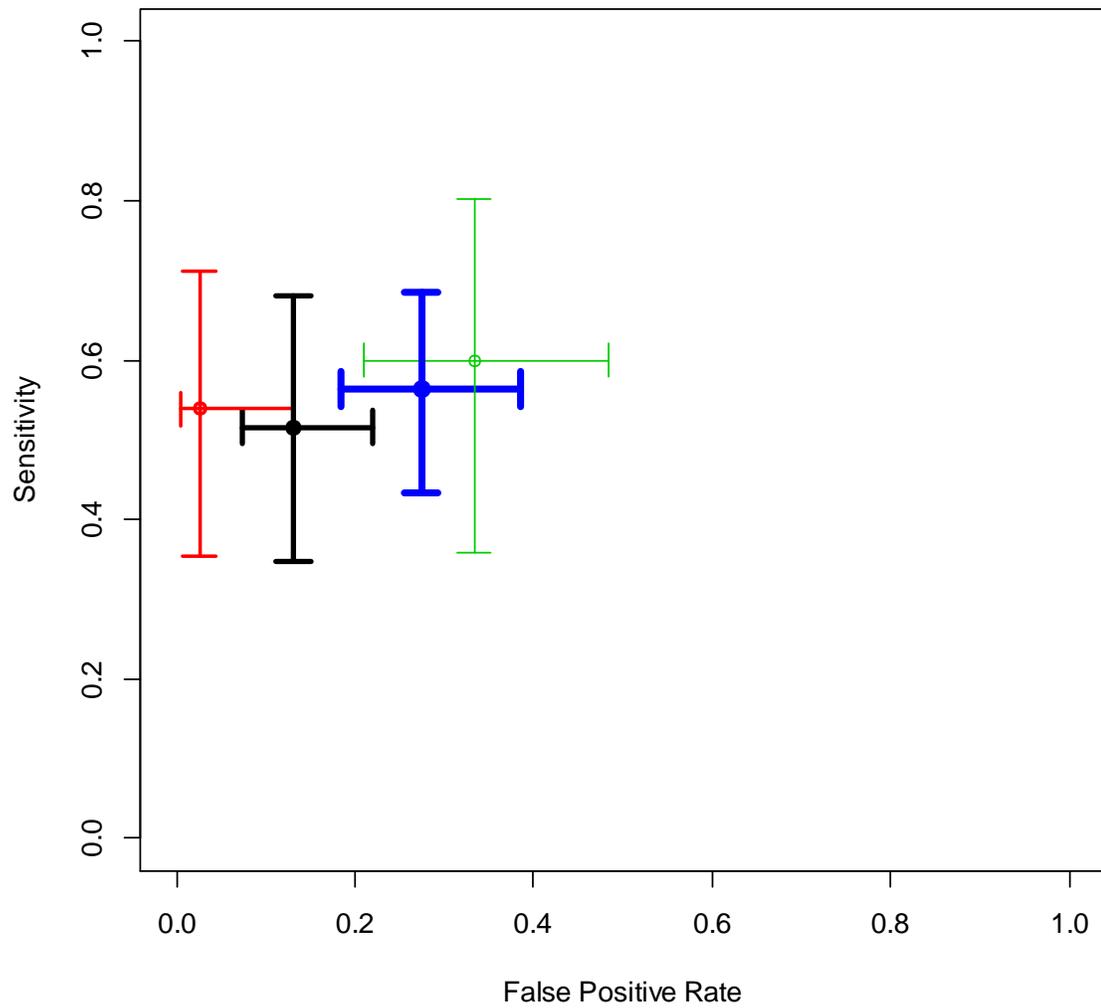


Figura 6-2. Florest plot para valores de especificidad



Gráfica 6-1. Sensibilidad/tasa de falsos positivos



Grafica 6-2. ROC eclipse

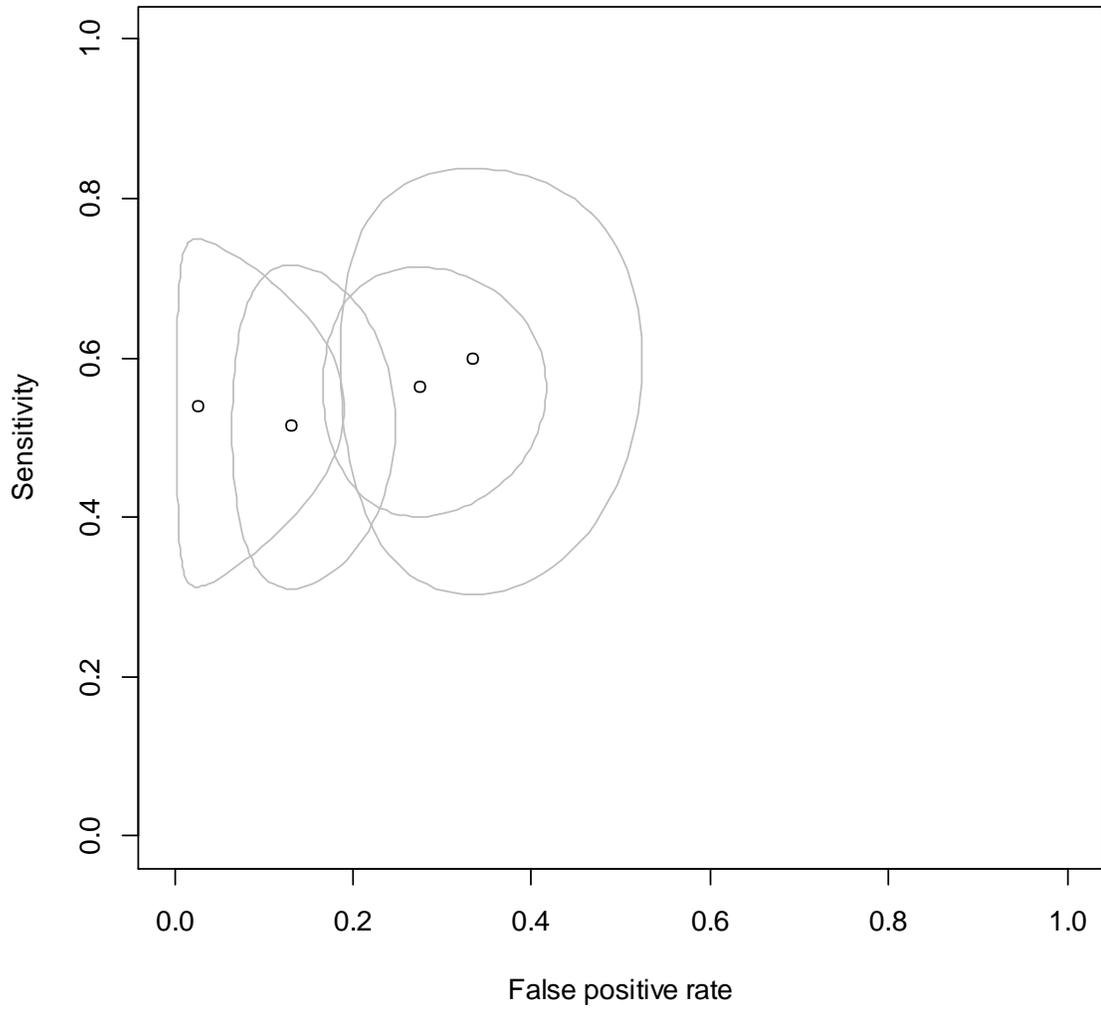
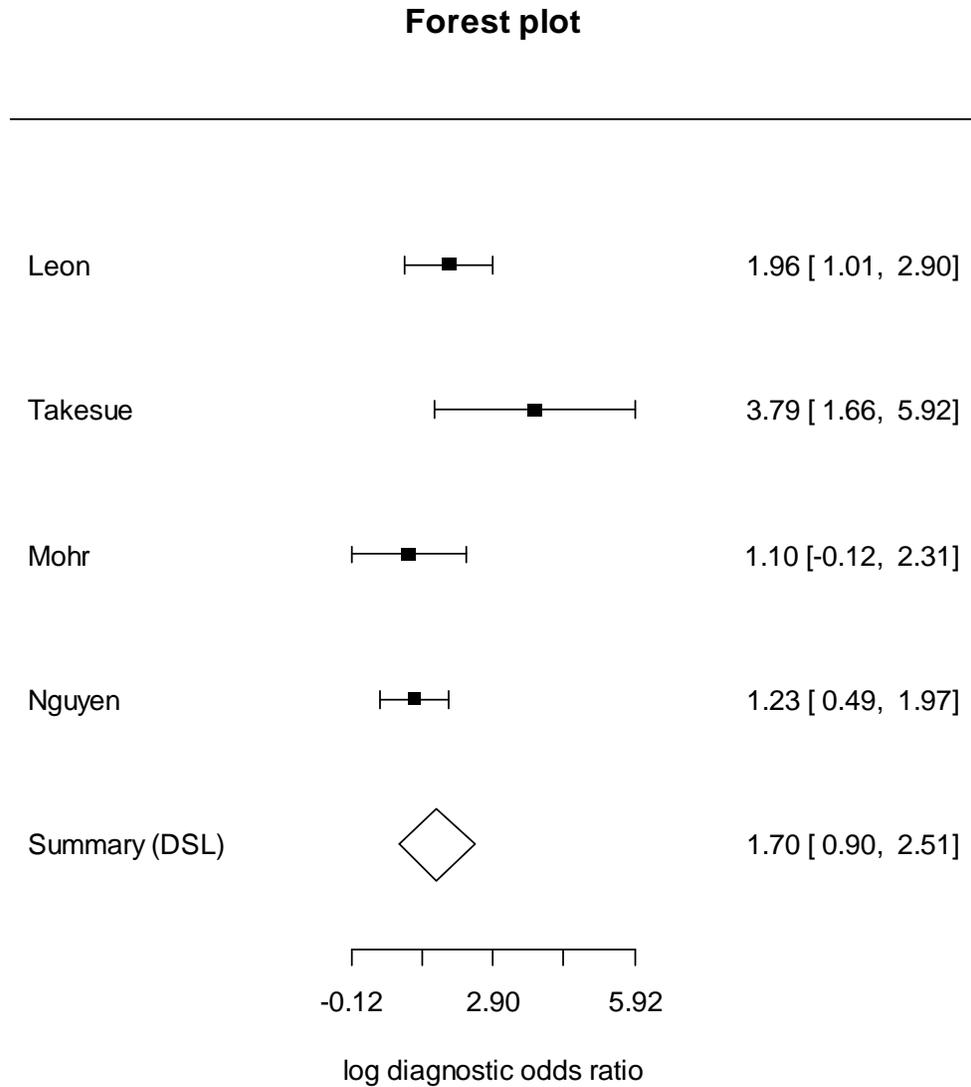


Figura 6-3. Forest plot para Odds ratio diagnóstico



7. Discusión

La candidiasis invasora corresponde a un grupo de infecciones invasoras por especies del genero *Candida*, que en los ultimos años ha tomado un valor importante como evento determinante de morbilidad en diferentes grupos de pacientes.

Las unidades de cuidados intensivos y el proceso de atencion que involucran hacia los pacientes en estado critico, con la utilizacion de terapias antimicrobianas de amplio espectro, con terapia de soporte especial como la hemodialisis y el monitoreo invasivo con todo tipo de dispositivos intravasculares, registran el mayor numero de infecciones invasoras por *Candida*.

En esta revision sistematica encontramos estudios recientes que cumplan con las características y objetivos de la revision, en la poblacion de pacientes hospitalizados en UCI, que plantearon la utilizacion de dos pruebas esencialmente, la medicion del (1-3) β -D-glucano y la utilizacion de reaccion en cadena de la polimerasa para la deteccion de DNA fungico.

Se encontraron a partir del metaanálisis valores de sensibilidad para la medicion del (1-3) β -D-glucano entre el 51,6% y el 60%, y valores de especificidad de 66,7% a 97,4%. El ORD (Odds Ratio Diagnostico) fue de 1.7 los que nos indica un pobre rendimiento diagnostico de la prueba, en este analisis encontrando su aplicación principalmente a nivel de pacientes criticos en unidades de cuidados intensivos postquirurgicas y especificamente de cirugia abdominal.

La utilización de esta prueba en particular debe hacerse en escenarios de alto riesgo, quizás como una herramienta para reducir la probabilidad clínica de infección y disminuir la exposición de los pacientes a terapias no indicadas con anti fúngicos.

Algunos autores recomiendan la medición seriada de este tipo de marcadores antigénicos; sin embargo en escenarios de baja disponibilidad de recursos como el nuestro, dicha estrategia implicaría sobrecostos importantes para su implementación.

Es probable que el proceso diagnóstico para estas poblaciones de pacientes siga lineamientos que han sido propuestos de manera reciente por autores como Pemán y colaboradores, que plantean la utilización de puntajes de riesgo clínico seguidos de los biomarcadores, especialmente al enfrentar a pacientes de patología médica con riesgo para candidiasis invasora ⁵³.

Deben plantearse nuevos estudios que estandaricen la aplicación de pruebas del mismo procesamiento para enfrentarlas a un comparador constante, que usualmente corresponde a los criterios clínicos y paraclínicos de infección fúngica invasora establecidos por el EORTC/MSG, probablemente haciendo énfasis en las pruebas de biología molecular que muestran características operativas a favor de la detección temprana de estos procesos infecciosos.

Tabla 7-1. Estudios incluidos con utilización del antígeno panfungico 1-3 Beta-D-glucacno

TIPO DE ESTUDIO	PRUEBA EVALUADA	CRITERIO DE INCLUSION	TIEMPO DE DURACION
cohorte prospectiva	(1-3) β -D Glucano	Clínicos	2003 a 2007
observacional prospectivo	(1-3) β -D Glucano	estadia UCI > 5 días conteo neutrofilos >500/mm ³ No diagnostico de IFI	marzo a agosto 2010
cohorte prospectiva	(1-3) β -D Glucano	criterio clinico de candidiasis invasora probable y probada	junio 2008 mayo 2010
clinico prospectivo multicentrico	(1-3) β -D Glucano	pacientes con cirugia 2 meses antes colonizacion demostrada de candida spp factores de riesgo para infeccion por candida fiebre persistente con 3 o mas antibacterianos	enero de 1999 a abril de 2002
cohorte prospectiva multicentrica	(1-3) β -D Glucano	estadia en UCI esperadea mayor a 7 días criterios clínicos	abril de 2009 a junio de 2010
cohorte prospectiva	(1-3) β -D Glucano	Pacientes quirúrgicos en UCI que requieran mínimo 5 días de estancia	junio 2008 a enero 2011

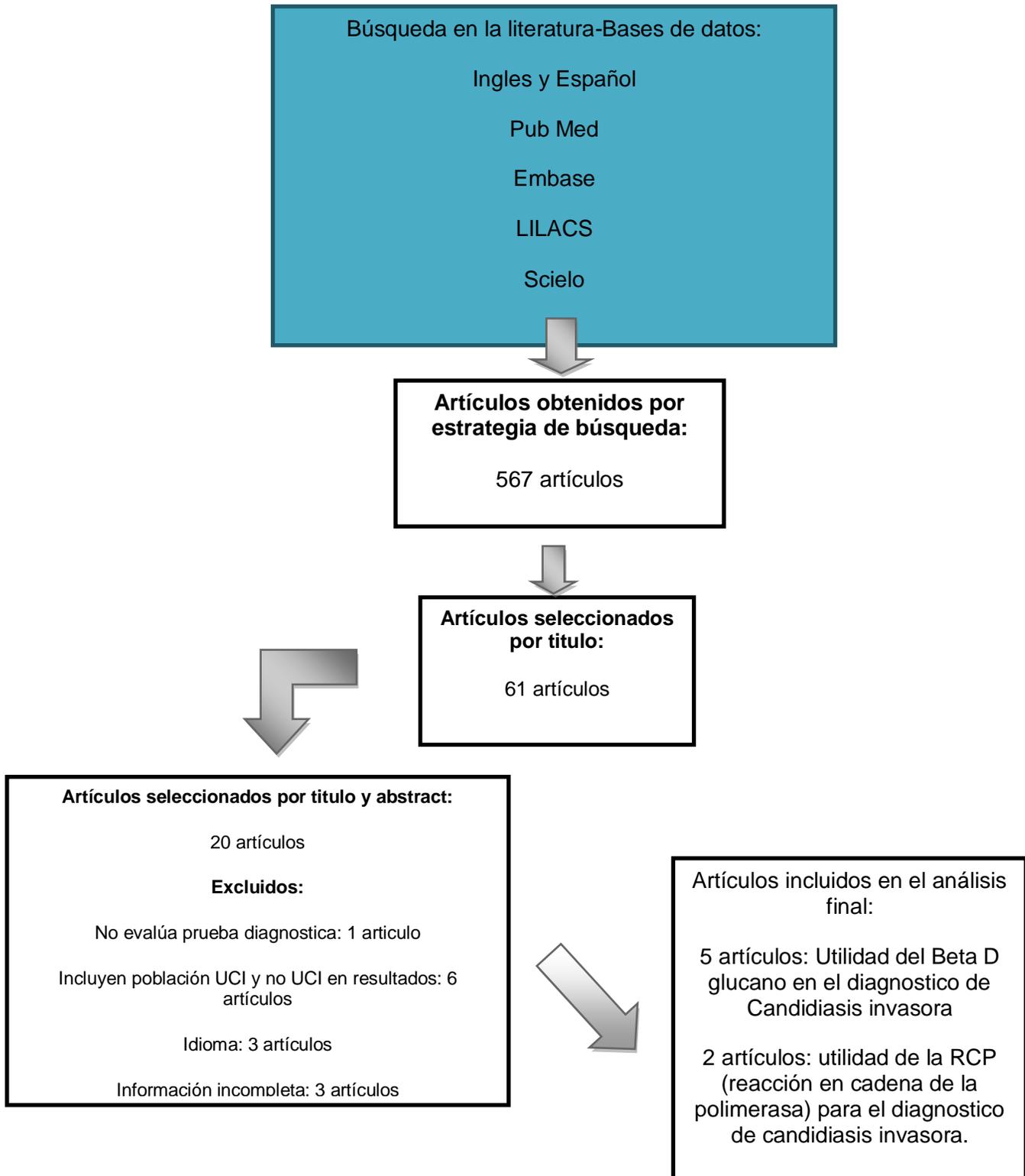
Tabla 7-1. (continuación)

Prospectivo diagnóstico	Reacción en cadena de polimerasa tiempo real Viracor-IBT Laboratorio (1-3) β -D Glucano Hemocultivos	Criterio microbiológico de candidemia, Candidiasis profunda	SD
-------------------------	---	--	----

Tabla 7-2. Estudios que utilizaron reacción en cadena de la polimerasa

Estudio	Año	Tamaño	Tipo de estudio	Prueba evaluada	Criterios de inclusión	Tiempo de duración
McMullan R y cols	2008	145	Prospectivo observacional diagnóstico	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real-Taqman	Pacientes con >72 horas de hospitalización en UCI Criterios clínicos	SD
Nguyen MH, Clancy CJ y cols	2012	21	Prospectivo diagnóstico	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real Viracor-IBT Laboratorios (1-3) β -D Glucano Hemocultivos	Criterio microbiológico de candidemia, candidiasis profunda	SD

Grafica 7-3. Flujo de selección de artículos



BIBLIOGRAFIA

1. Eggimann P, Garbino J, Pittet D: Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients, *Lancet Infect Diseases* 2003; 3: 685-702.
2. Cortes JA, Reyes P, Gómez C, Buitrago G, Leal AL: Fungal bloodstream infections in tertiary care hospitals in Colombia. *Rev Iberoam Micol* 2011; 28 (2): 74-8.
3. Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB: Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: Analysis of 24.179 cases from a prospective nationwide surveillance study, *Clin Infect Dis* 2004; 39: 309-17.
4. Berenguer J, Buck M, Witebsky F et al: Lysis-centrifugation blood cultures in the detection of tissue proven invasive candidiasis: disseminated vs. single organ infection. *Diagn Microbiol Infect Diseases* 1993; 17: 103-9.
5. Fuller DD, Davis TE, Denys GA, York MK: Evaluation of BACTEC/MYCO F/Lytic medium for recovery of mycobacteria, fungi and bacteria from blood. *J Clin Microbiology* 2001; 39: 2933-6.
6. Ahmad S, Khan Z: Invasive Candidiasis: a review of nonculture-based laboratory diagnostic methods. *Ind Journ of Med Microb* 2012; 30(3): 264-9.
7. Obayashi T, Yoshida M, Mori T et al: Plasma (1→3) beta-D-glucan measurement in diagnosis of invasive deep mycosis and febrile fungal episodes. *Lancet* 1995; 345: 17-20.

8. Miyazaki T, Kohno S, Mitsutake K et al: Plasma (1→3) beta-D-glucan and fungal antigenemia in patients with candidemia, aspergillosis and cryptococcosis. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 3115-8.
9. Yeo SF, Huie S, Sofair AN et al: Measurement of serum D-arabinitol/creatinine ratios for initial diagnosis and for predicting outcome in an unselected, population-based sample of patients with *Candida* fungemia. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3894.
10. Walsh TJ, Merz WG, Lee JW et al: Diagnosis and therapeutic monitoring of invasive candidiasis by rapid enzymatic detection of D-arabinitol. *Am J Med* 1995; 99:164-72.
11. Christensson B, Wiebe T, Pehrson C, Larsson L: Diagnosis of invasive candidiasis in neutropenic children with cancer by determination of D-arabinitol/L-arabinitol ratios in urine. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 636-40.
12. Tokunaga S, Ohkawa M, Takashima M et al: Clinical significance of measurement of serum D-arabinitol levels in candiduria patients. *Urol Int* 1992; 48: 195-9.
13. Sendid B, Tabouret M, Poirot JL, Mathieu D, Fruit J, Poulain D: New enzyme immunoassays for sensitive detection of circulating *Candida albicans* mannan and antimannan antibodies: Useful combined test for diagnosis of systemic candidiasis. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 1510-7.
14. Mikulska M, Calandra T, Sanguinetti M et al: The use of mannan antigen and anti-mannan antibodies in the diagnosis of invasive candidiasis: recommendations from the third European Conference on Infections in Leukemia. *Crit Care* 2010; 14:1-14.
15. Prella M, Bille J, Pugnale M et al: Early diagnosis of invasive candidiasis with mannan antigenemia and anti-mannan antibodies. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2005; 51: 95-101.

16. Marty FM, Koo S: Role of (1-3)- beta-D-glucan in the diagnosis of invasive aspergillosis. *Med Mycol* 2009; 47(supl 1): S233-40.
17. Mayr A, Lass-Flörl C: Non-culture based methods for the diagnosis of invasive candidiasis. *Curr Fungal Infect Rep* 2011; 5: 151-56.
18. Moragues MD, Ortiz N, Iruretagoyena JR, et al: Evaluation of a new commercial test (Candida albicans IFA Ig G) for the serodiagnosis of invasive candidiasis. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2004; 22: 83-8.
19. Quindós G, Moragues MD, Pontón J: Is there a role for antibody testing in the diagnosis of invasive candidiasis?. *Rev Iberoam Micol* 2004; 21:10-14.
20. Pazos C, Pontón J, Del Palacio A: Contributions of (1-3) β -D-Glucan chromogenic assay to diagnosis and therapeutic monitoring of invasive aspergillosis in neutropenic adult patients: a comparison with serial screening for circulating galactomannan. *J Clin Microb*; 43: 299, 2005.
21. Upton A, Leisenring W, Estey E et al: β -D-glucan assay in the diagnosis of invasive fungal infections. *Clin Infect Dis* 2006; 42: 1054-6.
22. Pickering JW, Sant HW, Bowles CA, Roberts WL, Wood GL: Evaluation of (1-3)- β -D-glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 5957-62.
23. Yeo SF, Wong B: Current status of nonculture methods for diagnosis of invasive fungal infections. *Clin Microbiol Rev* 2002; 15: 465-84.
24. Bille J: New non-culture based methods for the diagnosis of invasive candidiasis. *Curr Opin Crit Care* 2010; 16: 460-4.

25. Karageorgopolus DE, Vouloumanou EK, Michalopoulos A, Rafailidis PI, Falagas E: β -D-Glucan assay for the diagnosis of invasive fungal infections: A metaanalysis. *Clin Infect Dis* 2011; 52(6): 750-70.
26. Wallet F, Nseir S, Baumann L et al: Preliminary clinical study using a multiplex real-time PCR test for the detection of bacterial and fungal DNA directly in blood. *J Microbiol* 2005; 43: 65-84.
27. Dierkes C, Ehrenstein B, Siebig S et al: Clinical impact of a commercially available multiplex PCR system for rapid detection of pathogens in patients with presumed sepsis. *BMC Infect Dis* 2009; 9: 126.
28. Lehmann LE, Hunfeld KP, Steinbrucker M et al: Improved detection of bloodstream pathogens by real-time PCR in severe sepsis. *Intensive Care Med* 2010; 36: 49-56.
29. Cortes JA, Concha A, Cediell LE, Castillo JS: Métodos diagnósticos en candidemia: una revisión sistemática de la literatura con meta-análisis. *Rev Chil Infect* 2011; 28(5): 423-8.
30. McMullan R, Metwally L, Coyle PV, Hedderwick S, McCloskey B, O'Neill HJ, Patterson C, Thompson G, Webb CH, Hay RJ: A prospective clinical trial of a real time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of candidemia in nonneutropenic, critically ill adults. *Clin Infect Dis* 2008; 46: 890-6.
31. Ostrosky-Zeichner, L: Prophylaxis or preemptive therapy of invasive candidiasis in the intensive care unit? *Crit Care Med* 2004; 32: 2552-2553.
32. Hollenback E: To treat or not to treat – critically ill patients with candiduria. *Mycoses* 2008; 51: 12-24.

33. Marriott DJE, Playford EG, Chen S et al: Determinants of mortality in non-neutropenic ICU patients with candidemia. Crit Care 2009; 13:R115.
34. Kauffman CA, Vasquez JA, Sobel JD et al: Prospective multicenter surveillance study of funguria in hospitalized patients. Clin Infect Dis 2000; 30: 14-8.
35. Stamm WE: Catheter-associated urinary tract infections: epidemiology, pathogenesis and prevention. Am J Med 1991; 91 (Suppl 3B): 65-71.
36. Alvarez-Lerma F, Nolla-Salas J, Leon C et al: Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units. Intensive Care Med 2003; 29: 1069-76.
37. Passos XS, Sales WS, Maciel PJ et al: Candida colonization in intensive care unit patients urine. Mem Inst Oswaldo Cruz 2005; 100: 925-8.
38. Toyas SP, Schraufrogel DE, Tzelepis GE: Candiduria in intensive care units: association with heavy colonization and candidemia. J Hosp Infect 2007; 66: 201-6.
39. Di Nubile MJ, Lupinacci RJ, Strohmaier KM, Sable SA, Kartsonis NA: Invasive candidiasis treated in intensive care unit: observations from randomized clinical trial, J Crit Care 2007; 22: 237-44.
40. Piarroux R, Grenouillet F, Balvay P, et al: Assessment of preemptive treatment to prevent severe candidiasis in critically ill surgical patients, Crit Care Med 2004; 32: 2443-2449.
41. León C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Galván B, Blanco A, Castro C, et al: *Candida* colonization and invasive candidiasis in non-neutropenic critically ill patients: a prospective multicenter study, Crit Care Med 2009; 37: 1624-33.

42. Hollenback E: Invasive candidiasis in the ICU: evidence based and on the edge of evidence, *Mycoses* 2008; 51: 25-45.
43. Kratzer C, Graninger W, Lassnigg A, Presterl E: Design and use of *Candida* scores at the intensive care unit, *Mycoses* 2011; 54: 467-74.
44. Whiting P, Rutjes AW, Dinnes J et al: Development and validation of methods for assessing the quality of diagnostic accuracy studies. *Health Technology Assessment* 2004; 8: 1-234.
45. Whiting PF, Weswood ME, Rutjes AWS, Reistma JB, Bossuyt PNM, Kleijnen J: Evaluation of QUADAS, a tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies, *BMC Medical Res Method* 2006; 6: 1-9.
46. Takesue Y, Kakehashi M, Ohge H, Imamura Y, Sueda T et al: Combined assessment of β -D-Glucan and degree of *Candida* colonization before starting empiric therapy for candidiasis in surgical patients. *World J Surg* 2004; 28: 625-30.
47. Hanson KE, Pfeiffer CD, Lease ED, Balch AH, Zaas AK, Perfect JR, Alexander BD: β -D-Glucan surveillance with preemptive anidulafungin for invasive candidiasis in intensive care unit patients: a randomized pilot study. *Plos one* 2012; 7: 1-8.
48. Posteraro B, De Pascale G, Tumbarello M, Torelli R, Pennisi MA, Bello G, Maviglia R, Fadda G, Sanguinetti M, Antonelli M: Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1-3) β -D-Glucan assay, *Candida* score, and colonization index. *Critical Care* 2011; 15: R249.
49. Mohr JF, Sims C, Paetznick V, Rodriguez J, Finkelman MA, Ostrosky-Zeichner R, Ostrosky-Zeichner L et al: Prospective survey of (1-3) β -D-glucan and its relationship to invasive candidiasis in the surgical intensive care unit setting. *Journ of Clin Microbiol* 2011; 49: 58-61.

50. Acosta J, Catalan M, Montejo JC, Finkelman MA et al: Prospective study in critically ill non-neutropenic patients: diagnostic potential of (1-3) β -D-glucan assay and circulating galactomannan for the diagnosis of invasive fungal disease. *Eur Jour Clin Microbiol Infect Dis* 2012; 31: 721-31.

51. Leon C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Castro C, Ubeda A, Fariñas O et al: Value of β -D-glucan and *Candida albicans* germ tube antibody for discriminating between *Candida* colonization and invasive candidiasis in patients with severe abdominal conditions. *Intensive Care Med* 2012; 38: 1315-25".

52. Nguyen MH, Wissel MC, Shields RK, Salomoni MA, Hao B, Clancy CJ et al: Performance of *Candida* Real-time polymerase chain reaction, β -D-glucan assay, and blood cultures in the diagnosis of invasive candidiasis. *Clin Infec Dis* 2012; 54: 1240-8.

53. Pemán J, Zaragoza R: Haciendo el diagnóstico temprano de la candidiasis invasora en el paciente crítico. *Rev Iberoam Micol* 2012; 29 (2): 71-5.