

Determinación de las especies de *Candida* en muestras respiratorias de pacientes con ventilación mecánica

Sara Arroyo-Escalante,¹ David Moncada,² Roberto Arenas,³ Rodolfo Vick-Fragoso⁴

RESUMEN

Antecedentes: La neumonía es una complicación en pacientes con ventilación mecánica y también es una de las consecuencias más severas de las infecciones por *Candida* sp. **Objetivo:** Estudiar las muestras respiratorias de pacientes con ventilación mecánica para determinar las especies del género *Candida*, por métodos automatizados. **Metodología:** Estudio descriptivo, transversal y observacional en el periodo de junio de 2002 a julio de 2003. Se incluyeron todos los cultivos de *Candida* en pacientes hospitalizados con ventilación mecánica. **Resultados:** Se estudiaron 440 muestras de aspirados bronquiales. Se obtuvieron 296 cultivos positivos para bacterias y 42 para levaduras, de éstos, 22 fueron cultivos puros. *C. albicans* representó el 52%, *C. tropicalis* 24%, *C. glabrata* 19% y *C. parapsilosis* el 5%. **Discusión:** *Candida albicans* fue la especie predominante (52%), tanto en pacientes adultos como en niños. El aislamiento de *Candida tropicalis* (24%) es un hallazgo muy importante por tener mayor capacidad de invasión y alta tendencia a la resistencia a derivados azólicos. *Candida parapsilosis* (5%) es una especie emergente en niños hospitalizados. **Conclusiones:** La identificación de las especies de *Candida* por métodos automatizados ayuda en la selección precisa del tratamiento específico para la especie reportada. Por ello se requiere monitorear rutinariamente muestras respiratorias de pacientes con ventilación mecánica, ya que otras especies de *Candida* están reemergiendo como *C. tropicalis* y *C. glabrata*.

Palabras clave: Ventilación mecánica, muestras respiratorias, *Candida* sp.

ABSTRACT

Background: Pneumonia is a frequent complication in patients under mechanic ventilation and it is also a severe consequence of *Candida* infection. **Objective:** To study samples from patients with mechanical respiration and to classify by automatized methods the different species of *Candida*. **Methodology:** Descriptive, transversal, and observational study. In a 12 months period we included all samples with *Candida* isolation from patients with respiratory mechanical ventilation. **Results:** We studied 440 samples from bronchial aspirates. We observed 296 positive bacterial cultures and yeasts were isolated in 42; 22 only with *Candida*. *C. albicans* 52%, *C. tropicalis* 24%, *C. glabrata* 19% and *C. parapsilosis* 5%. **Discussion:** *Candida albicans* was the most frequent yeast (52%), in both adults and children. *Candida tropicalis* (24%) was very important because its invasive potential and high tendency of resistance to azolic derivatives. *Candida parapsilosis* (5%) is considered an emergent yeast in hospitalized children. **Conclusions:** In the identification of yeast we found very useful the automatized techniques. It is mandatory to perform a routine monitorization of respiratory samples in patients with a mechanical ventilation because others *Candida* species are reemerging as *C. tropicalis* and *C. glabrata*.

Key words: Mechanical respiration, respiratory samples, *Candida* sp.

¹ CQ. Sección de Microbiología.

² QBP. Jefe de la Sección de Microbiología.

³ Jefe de la Sección de Micología.

⁴ Jefe del Servicio de Infectología.

Hospital General "Dr. Manuel Gea González"

Correspondencia:

Dr. Roberto Arenas.

Sección de Micología. Hospital General "Dr. Manuel Gea González". Calzada de Tlalpan Núm. 4800. Col. Sección XVI, Deleg. Tlalpan, México, D.F. 14080. Tel. 40003000.

INTRODUCCIÓN

Los hongos o las enfermedades que producen, se conocen desde la más remota antigüedad; los griegos y los romanos describieron algunas de sus manifestaciones clínicas.¹ En los últimos años se ha observado un aumento de aislamientos de organismos levaduriformes en pacientes hospitalizados y las levaduras del

género *Candida* aparecen como patógenos nosocomiales emergentes junto a otras levaduras que previamente eran consideradas como inocuas o que raramente y bajo condiciones específicas producían enfermedad.² Paralelamente con este aumento, se ha notado la aparición de especies diferentes a *Candida albicans*, así como de cepas resistentes a los antifúngicos disponibles, lo cual ha hecho necesaria la identificación de especies y la estandarización de pruebas de sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos.

El incremento de estas infecciones fúngicas puede ser atribuido a factores tales como: permanencia en unidad de cuidados intensivos, largos tiempos de cateterización, ventiladores mecánicos, intubaciones, nutrición parenteral, cirugías, trasplantes, uso de inmunosupresores y terapias antibacterianas de amplio espectro, entre otros.

El objetivo de este trabajo es determinar, por medios automatizados, las especies de *Candida* en todas las muestras de aspirado bronquial de pacientes con ventilación mecánica en las que se observen levaduras del género *Candida*. Estos métodos requieren de un tiempo mínimo de preparación y eliminan la incubación prolongada que se utiliza cuando se siguen esquemas tradicionales.

MATERIAL Y MÉTODOS

El presente trabajo se llevó a cabo en el periodo comprendido entre el año 2002 y 2003, en la Sección de Microbiología del Hospital General "Dr. Manuel Gea González" de la Secretaría de Salud de la ciudad de México, D.F. Se utilizaron muestras de pacientes hospitalizados con ventilación mecánica de los diferentes Servicios con los que cuenta el hospital: Unidad de Cuidados Intensivos (UCI), Unidad de Cuidados Intensivos Neonatos (UCIN), Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica (UTIP), Urgencias Adultos (UA), Medicina Interna (MI) y Otorrinolaringología.

Se realizó un estudio descriptivo, transversal y observacional. Se incluyeron todos los cultivos positivos de levaduras del género *Candida* de pacientes con ventilación mecánica ubicados en diferentes Servicios.

Criterios de inclusión: Pacientes de cualquier edad y sexo, con ventilación mecánica, en quienes se solicitó cultivo de muestras respiratorias.

Criterios de exclusión: Pacientes con inmunosupresión o con tratamiento antimicótico.

Criterios de eliminación: Pacientes cuyos cultivos se contaminaron.

Se analizaron las siguientes variables: edad, sexo y cultivos.

Proceso de las muestras: Se inició con la observación de la muestra bronquial en una preparación directa con KOH (hidróxido de potasio) al 10%. El examen directo se realizó tomando con una pipeta Pasteur una porción de la muestra bronquial y mezclándola con KOH, se dejó en reposo por tres minutos para esperar a que se destruyera el moco y se observó en el microscopio a 10x y 40x buscando micelio, pseudomicelio o ambos.

Luego de encontrar alguna de estas formas, se sembraron en tubos con medio de cultivo agar Sabouraud. Posteriormente se incubaron a 37 °C durante un periodo de 24 a 48 horas.

Se consideraron positivos los cultivos en los cuales se desarrollaron colonias típicas de *Candida*. A cada colonia se le practicó examen directo, con azul de lactofenol para identificar levaduras. Las cepas positivas se aislaron, resembrándolas en cajas Petri de agar gelosa sangre, se incubaron de 24 a 48 horas a 37 °C; una vez crecida la cepa se procedió a la identificación de la especie con pruebas bioquímicas automatizadas (Vitek). La tarjeta bioquímica para identificación de levaduras (YBC) está diseñada para ser utilizada conjuntamente con el sistema de identificación automatizada de levaduras más frecuentes procedentes de aislamientos puros. Los organismos que pueden ser identificados son: *Candida albicans*, *C. famata*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. kefry* (*pseudotropicalis*), *C. krusei*, *C. lambica*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis*, *C. rugosa*, *C. tropicalis*, *C. zeylanoides*, *Cryptococcus albidus*, *C. humicolus*, *C. laurentii*, *C. luteolus*, *C. neoformans*, y *C. terreus*.

La tarjeta bioquímica para levaduras se compone de 32 pocillos, de los cuales 28 contienen medios bioquímicos y 4 contienen medios para control negativo. Generalmente se requiere de 24 horas de incubación a 30°C, efectuándose una primera lectura a las 24 horas, ocasionalmente una segunda a las 48 horas en el módulo Lector/Incubador. Para utilizar la tarjeta YBC es necesario preparar una suspensión equivalente al patrón McFarland No. 2 con un cultivo puro entre 18-48 horas de incubación. Se debe proporcionar un inóculo uniforme en todos los pocillos; las reacciones son analizadas automáticamente. Al finalizar el ciclo de lectura, se imprime automáticamente una identificación para cada tarjeta en el Lector/Incubador. Sin embargo, hay que tener los siguientes cuidados en su

manejo: antes de poner las tarjetas en el Lector/Incubador comprobar si hay presencia de burbujas; únicamente deberán introducirse para su análisis aquellas tarjetas que hayan sido correctamente inoculadas.

VENTILACIÓN MECÁNICA

Es la forma convencional de apoyo ventilatorio, es decir, con presión positiva. Un ventilador introduce en las vías aéreas del paciente un volumen predeterminado de una mezcla de gases.³

Muestra respiratoria: La muestra respiratoria es una porción de espécimen obtenida del tracto respiratorio.

Técnicas de recolección de muestras respiratorias: La recolección de las muestras se puede hacer por técnicas invasivas o no invasivas.

Técnica no invasiva: El aspirado traqueal es el método más sencillo de obtener secreciones respiratorias en el paciente ventilado, aunque la técnica no está estandarizada, no se necesita personal especializado y sólo se precisa de un colector de esputo para recoger la muestra. Su única complicación es la desaturación de oxígeno, el cual puede desaparecer durante la aspiración de secreciones a través del tubo endotraqueal.

Técnicas invasivas: El cepillado bronquial mediante catéter telescópico y el lavado broncoalveolar.

El cepillado bronquial mediante catéter broncoscópico se recomienda para la recuperación óptima de bacterias aerobias, anaerobias obligadas y hongos, en secreciones pulmonares. La técnica se lleva a cabo con un catéter telescópico doble, tapado, con polietilenglicol en el extremo distal para proteger un cepillo bronquial pequeño. Es un proceso sencillo pero delicado.

El lavado broncoalveolar permite recoger material alveolar mediante la instalación y aspiración secuencial de varias alícuotas de suero salino estéril a través del fibrobroncoscopio enclavado en la vía aérea del segmento radiológicamente afectado.⁴

RESULTADOS

En un lapso de 12 meses se estudiaron un total de 440 muestras de aspirados bronquiales. Se obtuvieron 296 cultivos positivos para bacterias y 42 para levaduras. De estos últimos, hubo 22 cultivos puros y 20 estaban combinados con otros microorganismos como *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter calcoaceticus baumannii-complex*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*.

De las levaduras obtenidas, *C. albicans* representó el 52%, *C. tropicalis* 24%, *C. glabrata* 19% y *C. parapsilosis* 5% (Figura 1).

La distribución de las especies aisladas en los diferentes Servicios fue la siguiente: Unidad de Cuidados Intensivos 15 (35.7%), Medicina Interna 19 (45.2%), Unidad de Cuidados Intensivos Neonatos 5 (11.9%), Unidad de Terapia Intensiva Pediátrica 1 (2.4%), Urgencias Adultos 1 (2.4%) y Otorrinolaringología (ORL) 1 (2.4%) (Figura 2). Encontramos mayor predominio en el sexo masculino 34 (81%) que en el femenino 8 (19%) (Cuadro I). El intervalo de edad fue muy amplio, desde neonatos hasta 85 años.

DISCUSIÓN

En México son muy escasos los estudios que se han publicado para conocer las especies del género *Candida* y su sensibilidad a antifúngicos. Los cambios en la epidemiología de las candidosis están relacionados con un incremento en la proporción de estas infecciones producidas por *Candida* no *albicans* y la emergencia de resistencia de *Candida* sp.¹

Ciertas especies de hongos tienen una resistencia innata a determinados antifúngicos, así por ejemplo, dentro de los hongos levaduriformes, *Trichosporon* sp. muestra resistencia a la anfotericina B y *C. lusitanae* ha sido aislada de pacientes que han experimentado fracasos terapéuticos con este fungicida. Así mismo, en las últimas décadas se ha observado que algunas especies son intrínsecamente resistentes a fluconazol como *C. krusei* y que otras tienen una susceptibilidad muy variada a los azólicos¹⁻⁷ como *C. glabrata*. Se ha mencionado que las terapias a largo

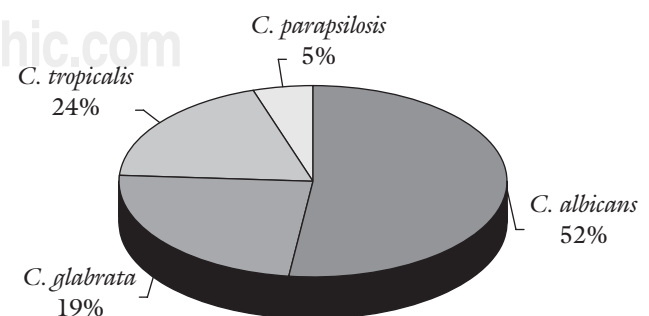


Figura 1. Porcentaje general de las especies de *Candida* aisladas.

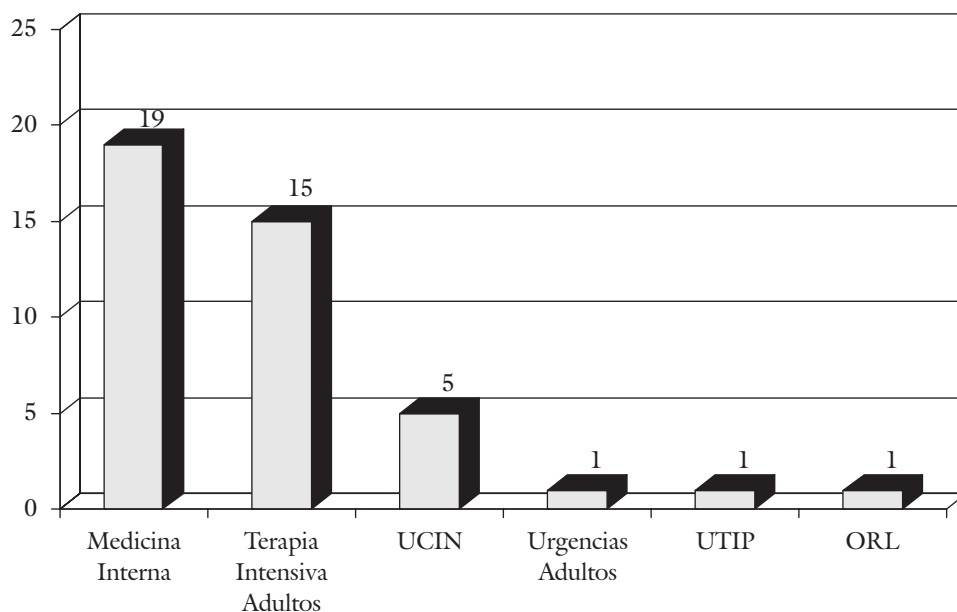


Figura 2. Distribución de *Candida* por Servicio.

Cuadro I. Distribución por sexo.

Sexo	No.	%
Masculino	34	81
Femenino	8	19
Total	42	100

plazo y la profilaxis parecen ser las responsables del desarrollo de resistencia.

Durante las últimas tres décadas son escasos los avances en el tratamiento de las infecciones fúngicas sistémicas. A fines de los años 70 se sintetizó el ketconazol, desde entonces sólo tres nuevos triazoles para uso sistémico han sido incorporados, el fluconazol, el itraconazol y recientemente el voriconazol.¹ En pacientes pediátricos la terapia sistémica se limita a fluconazol y anfotericina B.

Como se puede ver, a través de los resultados de este trabajo, la determinación de la especie es muy útil debido a que tiene importancia pronóstica, ya que la determinación de especies permite plantear tratamientos más selectivos.

En relación al sexo observamos un predominio en hombres con una relación de 4:1. Se encontró *Candida albicans* como la especie predominante entre las levaduras aisladas, tanto en pacientes adultos como en niños. El aislamiento de *Candida tropicalis* (24%) es un

hallazgo muy importante, ya que ésta se caracteriza por tener mayor capacidad invasiva que *C. albicans* y alta tendencia al desarrollo de resistencia a los azólicos. *Candida parapsilosis* ha sido reportada en muchos casos como especie dominante en niños hospitalizados y por ello considerada como especie emergente dentro del género *Candida*. En nuestro trabajo se presentó en un bajo porcentaje (5%), pero es importante considerarla, ya que se transmite fácilmente a través de manos, guantes, instrumental y fluidos contaminados, por lo que hay que tener un control estricto de asepsia de estos elementos.

Las candidosis endógenas, en general no son diseminadas a partir de las candidosis superficiales, excepto en los neonatos de bajo peso que tienen además inmadurez inmunológica.¹ En formas diseminadas los órganos más afectados son los pulmones. La neumonía es una de las consecuencias que proviene de esta levadura, en pacientes con ventilación mecánica⁸⁻¹¹ y también es una de las complicaciones más graves que proviene del género *Candida*; sin embargo, es cierto que la neumonía no siempre es causada por *Candida*. También es cierto que en los pacientes con ventilación mecánica toda *Candida* causa neumonía.

Ante tal situación, se propone en este trabajo estudiar las muestras respiratorias obtenidas por medio de la técnica de fibrobroncoscopio, para poder realizar su identificación micológica precisa, sencilla y rápida, ya que es conveniente estar apoyados en pruebas bioquí-

micas automatizadas que permitan determinar la especie y poder indicar un tratamiento más adecuado.

Si se hace la determinación de las especies de *Candida* en muestras respiratorias de pacientes con ventilación mecánica, se dará un tratamiento más específico, disminuirá la estancia hospitalaria y por lo tanto bajarán los costos que cada paciente genera por día de hospitalización, por lo que se tendrá un mejor costo-beneficio.^{12,13}

Entre las ventajas de estas técnicas rápidas de identificación podemos señalar las siguientes: la tarjeta necesita un tiempo mínimo de preparación y elimina la incubación prolongada de los diversos medios de cultivo que se utilizan cuando se siguen los esquemas tradicionales; se eliminan las lecturas subjetivas de resultados, se reduce la posibilidad de contaminación.

Este estudio demuestra la necesidad de monitorear rutinariamente las muestras respiratorias de pacientes con ventilación mecánica, ya que *Candida albicans* no es la única especie aislada, puesto que otras especies, como *Candida tropicalis*, *C. glabrata* y *C. krusei*, están re-emergiendo. La literatura menciona que presentan una alta tendencia a desarrollar resistencia a tratamientos convencionales.

Debido al incremento en la frecuencia de infecciones causadas por levaduras, el aumento en la mortalidad de los pacientes afectados y la emergencia de aislamientos resistentes, se ha creado la necesidad de efectuar una vigilancia epidemiológica cuidadosa sobre los aislamientos procedentes del medio hospitalario. Se hace ahora indispensable clasificar todas las levaduras del género *Candida* a nivel de especie. Igualmente importante es la realización de las pruebas de susceptibilidad a los antifúngicos.¹⁴

Con este trabajo, en el Hospital General "Dr. Manuel Gea González" se ha implementado, de forma rutinaria, la determinación de especies de levaduras en muestras respiratorias de pacientes con apoyo ventilatorio.

Agradecimientos al biólogo Andrés Hernández Gómez, por su colaboración.

REFERENCIAS

1. Arenas R. *Micología Médica Ilustrada*. 2ª ed. México. McGraw-Hill Interamericana 2003:3.
2. Mac Donald L, Baker C, Chenoweth C. Risk for candidemia in children's hospital. *Clin Infect Dis* 1998;26(3):642-45.
3. Marani P, Martínez S, Izura J y cols. Vigilancia y control de la neumonía asociada a ventilación médica. *Ann Epidemiol* 2000;23(2):143-60.
4. Gayton H. *Tratado de Fisiología Médica*. 10a ed. México. McGraw-Hill 2002:535-56.
5. Levy I, Rubin LG, Vasisht S et al. Emergence of *Candida parapsilosis* as the predominant species causing candidemia in children. *Clin Dis* 1998;26(5):1086-88.
6. Rangel-Frausto MS, Wiblin T, Blumberg HM et al. National epidemiology of mycoses survey (NEMIS): variation rates of bloodstream infection due to *Candida* species in several surgical intensive care units and six neonatal intensive care units. *Clin Infect Dis* 1999;29(2):253-58.
7. El-ebiary M, Torres A, Fabregas N et al. Significance of the isolation of *Candida* species from respiratory samples in critically ill, non-neutropenic patients. *Am J Resp Crit Care Med* 1997;156(2):583-90.
8. Gupta BK, Sifhu U, Kumar R et al. Study of fungi associated with bronchopulmonary disorders. *Indian J Med Sci* 1998;50(9):333-36.
9. Singh K, Chakrabarti A, Narang A, Gopalan S. Yeast colonization & fungaemia in preterm neonates in a tertiary care centre. *Indian J Med Res* 1999;110:169-73.
10. Hernández TR, Rivera F, García MF y cols. Neumonía nosocomial asociada a ventilación mecánica en niños atendidos en una unidad de cuidados intensivos. *Rev Ped Mex* 2001:86-91.
11. Giono-Cerezo S. Agentes bacterianos causantes de infecciones respiratorias. En: García MI, Giono-Cerezo S, Pacheco A, Escobar JL. *Infecciones respiratorias agudas y crónicas*. México. Valdespino-INDRE-SSA 1999:401-14.
12. Sistema de Información Gerencial (WinSIG). *Manual de Operación*. Organización Panamericana de la Salud/Organización Mundial de la Salud, División de Desarrollo de Sistemas y de Servicios de Salud 2001:110-122.
13. Gupta BK, Sifhu U, Kumar R et al. Study of fungi associated with bronchopulmonary disorders. *Indian J Med Sci* 1998;50(9):333-36.
14. Bedout C. Evaluación de la susceptibilidad de *Candida* al fluconazol por el método de difusión en disco. *Biomédica* 2003;23:31-37.