

Colonización por especies de *Candida* en orofaringe y tracto gastrointestinal en niños con neutropenia febril

Harold Durango G. Bact.*
Mariluz Hernández E. MD**
Carmen Zapata M. Bact*
Margarita Sierra S. MD****
Jorge Peña S. MD****
María Adelaida Aristizábal G. MD***
Claudia Alzate C.*****
Paula López C.*****
Álvaro Posada D. MD***

Resumen

Objetivo: determinar la relación existente entre la colonización por especies de *Candida* en tracto gastrointestinal y orofaringe y el desarrollo de fungemia en pacientes oncológicos con neutropenia febril (NF). **Diseño:** estudio descriptivo. **Lugar:** Centro Hemato-oncológico Infantil U de Antioquia / Hospital Universitario San Vicente de Paúl - Medellín (enero 99-noviembre 2000). **Población:** niños con cáncer y NF. **Mediciones:** hisopado orofaríngeo, materia fecal(MF) y orina los días 0, 7, 14, 21 y 28 de hospitalización para recuento de levaduras; hemocultivos día 0, y otros de acuerdo a la clínica. Se utilizó Sabouraud, CHROMagar *Candida*-R®, BACTEC (PEDI PLUS/ F® y Mycosis IC/F®) y Minitek™. Resultados: se estudiaron 60 episodios

de NF en 45 pacientes, entre 2 y 13 años, promedio días neutropenia 6,3; promedio hospitalización 13,6 días. Al ingreso 14/60 estaban colonizados en orofaringe y 28/60 en MF. Predominó *C. albicans*; *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* aumentaron posteriormente; se encontró una tendencia al aumento de la colonización, no significativo, con los días de hospitalización. No se presentaron fungemias. **Conclusiones:** no se pudo relacionar los recuentos con diseminación, posiblemente por NF de corta duración. Las especies diferentes a *C. albicans* son importantes, se requieren estudios para determinar el origen intra o extrahospitalario y su sensibilidad. **Palabras claves:** *Candida*, neutropenia febril, colonización. b
Infectio 2002; 6(3): 156-161

* Laboratorio de Infectados, Departamento de Pediatría y Puericultura – Facultad de Medicina – U. de Antioquia.
** Servicio de Infectología, Departamento de Pediatría y Puericultura – Facultad de Medicina – U. de Antioquia.
*** Centro Hematológico Infantil, Departamento de Pediatría y Puericultura, Facultad de Medicina, U. de Antioquia.
**** Centro Hematológico Infantil, Hospital Universitario San Vicente de Paúl.
***** Estudiante de Bacteriología – U. de Antioquia
***** Estudiante de Enfermería – U. de Antioquia

Trabajo ganador de premio al mejor cartel en el V Congreso Colombiano de Enfermedades Infecciosas (Cartagena, junio de 2001).

Financiado por el CODI, Universidad de Antioquia.

Correspondencia: Harold Durango G, Departamento de Pediatría y Puericultura, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia. Correo electrónico: haeduga@hotmail.com

Introducción

Los niños con cáncer son susceptibles a infecciones oportunistas por microorganismos que suelen hacer parte de su microbiota. Entre estos microorganismos, las levaduras del género *Candida* se han convertido en un verdadero problema y en la última década, el número y porcentaje de infecciones por las especies de este género, ha aumentado dramáticamente. El 10% de ellas corresponden a complicaciones graves como la sepsis, generando una mortalidad que asciende aproximadamente a 50% (1-7).

En estos pacientes la colonización por especies del género *Candida* y su posterior diseminación, se asocia con factores como episodios de neutropenia prolongados, antibioticoterapia de amplio espectro, tratamientos con corticosteroides y sustancias citotóxicas, procedimientos invasivos (como catéteres centrales y vesicales, entre otros), además del tiempo prolongado de hospitalización. Es importante reconocer también que estas levaduras poseen un gran número de factores de virulencia que les permiten colonizar y aprovecharse de las alteraciones de los hospederos para producir enfermedad (1, 2, 4, 6, 8).

Entre los problemas encontrados en los pacientes colonizados por las diferentes especies de *Candida*, está el definir si se requiere o no tratamiento profiláctico, en qué momento y con cual antimicótico, dada la resistencia creciente a fluconazol y otros azoles, e inclusive, a la anfotericina B (2, 6, 9, 10). Hasta donde conocemos no hay otros estudios de colonización por *Candida* en niños con neutropenia febril en Colombia.

Hasta 1998 se desconocían las especies de *Candida* predominantes en el HUSVP y su sensibilidad a los antimicóticos, lo que nos motivó a hacer este estudio descriptivo longitudinal, con el cual se pretendió determinar la relación existente entre la colonización por especies de *Candida* en el tracto gastrointestinal y orofarínge y el desarrollo de fungemia en los niños neutropénicos febriles con enfermedad oncológica.

Materiales y métodos

1. Población del estudio

El estudio se efectuó con los pacientes oncológicos hospitalizados por neutropenia febril (recuento < 500 neutrófilos/mm³ de sangre y temperatura oral > 38,3 °C o > 38 °C por una hora),

en el Centro Hematológico Infantil de la Universidad de Antioquia y el Hospital San Vicente de Paúl de Medellín, entre enero de 1999 y noviembre de 2000, previo consentimiento verbal de los padres. Los investigadores no influyeron en los antibióticos o antimicóticos recibidos por los pacientes.

2. Recolección y procesamiento de muestras

A todos los pacientes que ingresaron al estudio les fueron tomadas las siguientes muestras: hisopado orofaríngeo, materia fecal, hemocultivos y orina.

Hisopado orofaríngeo

Se tomó los días 0, 7, 14, 21 y 28 de estancia hospitalaria, frotando tres veces con hisopo de algodón seco la región amigdalofaríngea suspendiendo su contenido en 3 mL de suero fisiológico estéril; se agitó vigorosamente y a esta suspensión se le adicionaron 3 mL de ácido cítrico al 10%, para luego mezclar y guardar en reposo entre 4 y 8 °C, por veinticuatro horas.

Materia fecal

Recogida los días 0, 7, 14, 21 y 28 de estancia hospitalaria, preferiblemente por defecación espontánea. La materia fecal se suspendió en 5 mL de suero fisiológico estéril hasta obtener una turbidez equivalente al patrón de bario número 7; de esta suspensión se tomaron 3 mL para mezclarlos con 3 mL de ácido cítrico al 10%, se agitó y guardó en reposo entre 4 y 8 °C durante 24 horas.

El procedimiento que se siguió para las dos muestras fue el siguiente: después de la refrigeración por 24 horas, la solución se centrifugó a 1.000 RPM/10 minutos; luego de observar el sedimento en fresco se sembró con asa calibrada (0,01 mL) en medio CHROMagar *Candida*-R® (11), a 28 °C durante cinco días, haciendo los recuentos de colonias a las 24, 48, 72, 96 y 120 horas de la incubación (12, 13).

Para hacer la diferenciación de las colonias resultantes, se clasificaron de acuerdo con el color y la morfología que tomaron en el medio. Una de cada grupo se sometió a otras pruebas, como formación de tubo germinal, inoculando la colonia en 2 mL de clara de huevo, a 37 °C durante cuatro horas (14). También se llevó a cabo la evaluación de la producción de clamidoconidias inoculando tres colonias en leche al 10% a 28 °C por 24 a 48 horas en oscuridad (14). Con los anteriores métodos se comprobaron los aislamientos identificados como *Candida albicans* y *Candida tropicalis*; para las

demás especies de *Candida* aisladas se empleó Minitek™ (Miniaturized Microorganism Differentiation System) para su clasificación, pero, además se tomaron cinco cepas al azar de las ya clasificadas, con el objeto de controlar el funcionamiento del CHROMagar *Candida*-R®.

Hemocultivos

Tomados el día 0 y posteriormente cuando clínicamente se justificara, y los días 7-14-21 y 28 de hospitalización si el paciente continuaba febril. se inoculaban dos medios BACTEC PEDS PLUS/F® y 1 Mycosis IC/F®, aplicando en cada uno entre 3 y 8 mL de sangre producto de dos punciones en venas diferentes. Se incubaron a 35 °C en el equipo BACTEC 9050® y se hicieron directos para coloración de Gram y subcultivos en agar chocolate, agar sangre, EMB (eosin methilen blue) y Sabouraud, a 37 °C, ante alarma del sistema o en los días 5 y 10 de incubación. En los casos en que se obtuvo crecimiento en alguno de los medios se procedió a efectuar la identificación de las diferentes colonias. Los hemocultivos se incubaron seis días en el medio BACTEC PEDS PLUS/ F® y durante 14 días en el medio para hongos, Mycosis IC/ F® (15, 16).

Orina

Tomada los días 0, 7, 14, 21 y 28 de estancia hospitalaria; se recogieron de 3 a 5 mL de orina por micción espontánea, si no había candidosis cutánea en zona genital, o por sonda instalada para este fin o por punción vesical. Una parte de esta muestra se sembró con asa calibrada (0,01 mL) en agar sangre y Sabouraud, con el fin de hacer recuento de colonias de levadura. El resto de la muestra se centrifugó a 1.000 RPM/10 minutos. Al sedimento se le hizo coloración de Gram y directo con solución salina al 0,9 % y se sembró en agar sangre y Sabouraud, para identificación de colonias en caso de crecimiento, como se mencionó anteriormente (17, 18).

Resultados

Se estudiaron 60 episodios de neutropenia febril en 45 pacientes oncológicos del Centro Hematológico Infantil. Sus edades estaban comprendidas entre los 2 y los 13 años con una media de 6,2 y una desviación estándar de 3,3. Los diagnósticos oncológicos correspondieron a leucemia linfocítica aguda (n = 31 episodios), linfoma no Hodgkin (n = 14), leucemia mielocítica aguda (n = 8), linfoma de Hodgkin (n = 1), retinoblastoma (n =

1), tumor de Wilms (n = 1), osteosarcoma (n = 1) o rhabdomioma (n = 3).

A continuación se presentan las características de los episodios que tuvieron seis o más días de duración (n = 49):

En todos los episodios los pacientes tenían recuentos menores de 500 neutrófilos/mL de sangre. Se encontró que en el 63,3 % de los eventos (31/49) los pacientes tenían neutropenia severa (< de 100 neutrófilos/mL de sangre), resaltando que 19 de ellos tenían recuentos de 0 neutrófilos/mL. En promedio, la duración de los episodios de neutropenia fue de 6,3 días, con rango de 2 a 14 y DS de 2,9.

En promedio, los pacientes estuvieron hospitalizados durante 13,6 días (6-30).

El promedio de días de fiebre, previo al ingreso fue de 2,8 días por episodio (rango de 1 a 9 y DS de 2,46). Durante la hospitalización esta fue de 3,7 días por episodio (rango de 1 a 13 y DS de 2,9). La fiebre persistió (más de 3 días) en el 38,8% de los casos.

Todos los pacientes recibieron antibióticos parenterales de acuerdo con el protocolo de atención del Centro Hematológico Infantil, vigente al momento de su hospitalización; además, en el 95,9% de los casos recibieron trimetoprim sulfamizol y ketoconazole profilácticos, recibieron otros antifúngicos durante la hospitalización según criterio del médico tratante.

El 55% de los pacientes recibió Neupogen®, en promedio de siete días (rango 1 a 13).

El porcentaje de positividad para bacterias en los hemocultivos en medio BACTEC PEDS PLUS/F® fue de 25% en el primer grupo (15/60) y de 10,2% en el segundo grupo (5/22). No se detectó crecimiento para hongos en el medio BACTEC PEDS PLUS/F® ni en el Mycosis IC/F®. No se detectó crecimiento microbiano en el tercer grupo de hemocultivos tomados a los pacientes que clínicamente lo requirieron.

Al ingreso, el 23,3 % de los pacientes estaban colonizados con alguna de las especies de *Candida* en orofaríngea y el 46,7% en materia fecal. En la tabla 1 se muestra el seguimiento y los promedios de colonización en los diferentes episodios de neutropenia febril estudiados.

Según la prueba de X^2 no se encontró asociación estadísticamente significativa entre el hecho de presentar *Candida* y los días de hospitalización.

Se demostraron colonizaciones recientes que no estaban al ingreso o con especie diferente al ingreso hasta el día 28, como se muestra en la tabla 2. Al Comparar los resultados de la colonización en frotis

TABLA 1

Seguimiento de la colonización en frotis faríngeo y materia fecal durante la estancia hospitalaria de los pacientes en los diferentes episodios estudiados.

Días de muestreo	Episodios estudiados	Seguimiento de la colonización						
		Sin colonización (%)	Frotis faríngeo			Materia fecal		
			Colonizados	%	Promedio UFCX10 ³	Colonizados	%	Promedio UFCX10 ³
0	60	26(43.3)	14	23.3	22.4	28	46.7	21.8
6-7	49	20(40.8)	18	36.7	12.2	29	59.2	15.9
14	14	3(21.4)	5	35.7	13.0	11	78.6	21.5
21	8	2(25.0)	2	25.0	15.0	6	75.0	34.2
28	4	2(50.0)	2	50.0	1.5	2	50.0	8.0

TABLA 2

Comparación de las colonizaciones por *Candida* recientes y totales en frotis faríngeo y materia fecal durante la hospitalización

Muestra	Colonización	Día de hospitalización que se tomaron las muestras				
		Día 0	Día 7	Día 14	Día 21	Día 28
Frotis faríngeo	Recientes*(%)	-	9(50.0)	3(60.0)	0(0.0)	1(50.0)
	Número de colonizados	14	18	5	2	2
Materia fecal	Recientes*(%)	-	13(44.8)	4(36.4)	0(0.0)	0(0.0)
	Número de colonizados	28	29	11	6	2
Total episodios estudiados		60	49	14	8	4

* Colonizaciones que no estuvieron presentes en muestras previas

faríngeo con materia fecal, estos fueron discordantes en 23 de los 34 colonizados y siempre fue mayor la colonización en materia fecal que en frotis faríngeo por ejemplo, al ingreso, 17 de 29 sólo estaban colonizados en materia fecal.

La especie predominante al ingreso, tanto en materia fecal como en orofarínge, fue *Candida albicans*, seguida de *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*. (Figura 1).

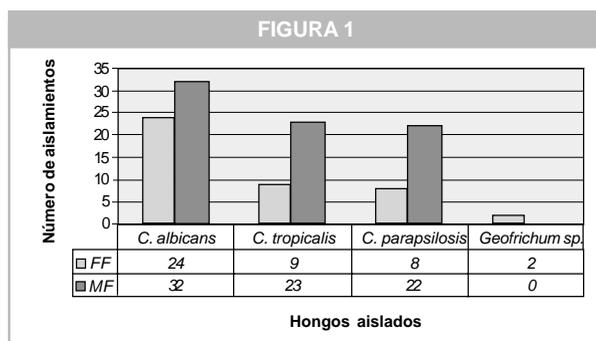
Con la utilización del medio CHROMagar *Candida*-

R[®] se obtuvo la clasificación presuntiva de las siguientes especies de *Candida*, de acuerdo con el pigmento que desarrollaba la colonia en el cultivo, así: *C. albicans* (verde), *C. tropicalis* (azul) y *Candida sp* (rosada); cuya correlación con las identificaciones de control (tubo germinal, clamidoconidias y MinitekTM) fue del 100%.

Discusión

En este estudio se demostró que muchos pacientes están colonizados por especies de *Candida*, tanto en orofarínge como en materia fecal desde el ingreso al hospital. La colonización en materia fecal es mayor que la de orofarínge, posiblemente porque el primero de estos lugares tiene mayores ventajas biológicas para la permanencia de *Candida*; Además la orofarínge está al alcance de limpieza y enjuagues que pueden disminuir la colonización de este sitio (5, 7).

No ocurrieron casos comprobados de candidemia a pesar del gran número de hemocultivos practicados; sin embargo, en varios pacientes los médicos



tratantes administraron anfotericina B o fluconazol empíricamente luego de la toma de los hemocultivos, ya que se conoce del beneficio de los antimicóticos en el paciente neutropénico con fiebre prolongada (20). La ausencia de fungemia también puede ser explicada porque este grupo de pacientes tuvo, en general, neutropenia de corta duración.

Aunque hay una tendencia al aumento de la colonización con la duración de la hospitalización, éste no fue significativo, posiblemente porque muchos de los pacientes que tuvieron hospitalizaciones de más de siete días, permanecían hospitalizados por quimioterapia, procedimientos o exámenes pendientes, pero ya habían superado factores de riesgo para la colonización o diseminación como eran el uso de antibióticos y la neutropenia. (1-5)

El ketoconazole profiláctico se usa hace varios años en el Servicio. Teóricamente, su empleo pudo haber disminuido la positividad de los hemocultivos. Al parecer, y de acuerdo con los resultados, éste no influye mucho en el porcentaje de colonización ni en los promedios de UFC. Sería interesante un estudio de pacientes neutropénicos sin esta profilaxis. Algunos han postulado que el ketoconazole puede estar relacionado con bacteriemias por bacilos Gram negativos en pacientes neutropénicos (19). No son claros entonces los beneficios con este medicamento que es potencialmente tóxico. Cuando se diseñó el estudio se decidió continuar con la profilaxis que venía usándose años atrás ya que se consideró importante apreciar su efecto y de alguna manera este medicamento podía estar influyendo en las especies de *Candida* aisladas.

En el estudio, la especie predominante en la colonización del tracto gastrointestinal fue *C. albicans*, sin embargo, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* aumentan durante la hospitalización. En infecciones por estos hongos es importante conocer la sensibilidad a los antimicóticos para orientar el tratamiento ya que estas últimas especies pueden ser menos sensibles a los antimicóticos (6, 7, 9, 10). El uso de ketoconazole profiláctico y otros antimicóticos podrían estar seleccionando cepas en nuestro hospital. Estudios más sofisticados (patrones de electroforesis en campo pulsado, genotipificación u otros) ayudarían a aclarar si los aislamientos de

C. tropicalis y *C. parapsilosis* son de adquisición intrahospitalaria o provienen del paciente que porta cantidades mínimas de estas levaduras.

En un paciente se demostró colonización por

Geotrichum penicillatum. Durante el tiempo del trabajo ocurrió un brote intrahospitalario por este microorganismo. La posibilidad de infección por este hongo levaduriforme y otros hongos más comunes en el neutropénico febril, como *Aspergillus* y mucorales influyen en la elección de los antimicóticos empíricos, dado que tienen alta resistencia a fluconazole, por ejemplo.

Consideramos que el cultivo en CHROMagar Candida-R® ofrece una gran ayuda en este tipo de trabajos ya que agiliza la identificación permitiendo, en corto tiempo, diferenciar algunas especies de *Candida* de muestras con varias especies de estas levaduras. El medio funcionó tanto en frotis faríngeo como en materia fecal, permitiendo la cuantificación directa del número de colonias aisladas (11, 12).

Finalmente, aunque los estudios de colonización no son esenciales para el manejo terapéutico de los pacientes neutropénicos febriles, si es una herramienta epidemiológica de gran ayuda para orientar la profilaxis y el tratamiento adecuado. Este estudio demostró que la colonización por *Candida* es frecuente en los pacientes oncológicos neutropénicos febriles del Centro Hematológico Infantil U de A - Hospital San Vicente de Paúl desde el inicio mismo de la hospitalización (23.3 % en orofaríngeo y 46.7% en materia fecal). La especie predominante fue *C. albicans* (46.7%), pero *C. tropicalis* (26.7%) y *C. parapsilosis* (26.7%) aumentan durante la hospitalización.

Agradecimientos:

A los doctores Ángela Restrepo y Luis Gonzalo Álvarez por sus valiosos aportes.

Referencias

1. **Senet JM.** Risk factors and physiopathology of candidiasis. Rev Iberoam Micol 1997; 14: 6-13.
2. **Karabinis A, Hill C, Leclercq B, et al.** Risk Factors Candidemia in Cancer Patients: a Case-Control Study. J Clin Microbiol 1988; 26: 429-432.
3. **Voss A, Hollis RJ, Pfaller MA, Wenzel RP, Doebbeling BN.** Investigation of the Sequence of Colonization and Candidemia in Non-neutropenic Patients. J Clin Microbiol 1994; 32: 975-980.
4. **Stamos JK, Rowley AH.** Candidemia in a Pediatric Population. Clin Infect Dis 1995; 20: 571-575.
5. **Pfaller MA.** Nosocomial Candidiasis: Emerging Species, Reservoirs, and Modes of Transmission. Clin Infect Dis 1996; 22 (Suppl 2): S89-94.
6. **PFIZER Inc.** Manejo de las infecciones micóticas en el nuevo milenio. En: Avances en Micología. Reunión Focus on fungal infections 7. San Antonio, Texas, 1997.

7. **Nucci M, Colombo AL, Spector N, et al.** Breakthrough Candidemia in Neutropenic Patients. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 275-276.
8. **PFIZER Inc.** El Diagnóstico de las Candidiasis Sistémicas. ¿Un desafío? Revisión bibliográfica, enero-febrero 1991.
9. **Omrum U, Anaissie RJ.** Problems and Controversies in the Management of Hematogenous Candidiasis. *Clin Infect Dis* 1996; 22 (Suppl 2): S95-101.
10. **De Pauw BE, Anaissie E.** Controversias en el manejo de candidiasis en pacientes neutropénicos tratados por enfermedades malignas: nuevo versus antiguo o mejor versus peor. *Int J Infect Dis* 1997; 1 (Suppl): S32-36.
11. **Baumgartner C, Freydiere AM, Gille Y.** Direct Identification and Recognition of Yeast Species from Clinical Material by Using Albicans ID and CHROMagar Candida Plates. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 454-456.
12. **Odds FC, Bernnaerts B.** CHROMagar Candida a New Differential Isolator Medium for Presumptive Identification of Clinically Important Candida Species. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1923-1929.
13. **Magaro HM, Biasoli MS, Thomas CE, et al.** Aspectos del ecosistema gastrointestinal humano y levaduras killer. *Rev Iberoam Micol* 1993; 10: 47-50.
14. **Vélez H.** Curso Avanzado de Hongos Oportunistas. Facultad de Medicina; Universidad de Antioquia. Medellín – Colombia. Julio de 1989; P: 88.
15. **Fricker H, Chirpaz A, Ambroise P, Grillo R, Lebeau B.** Evaluation of BACTEC 9240 Blood Culture System by Using the Aerobic 9240 Medium for Fungemia detection. *J Mycol Méd* 1997; 7: 128-133.
16. **Bianchi M, Negroni R, Robles A, Arechavala A, Corti M.** Comparative Study of Three Blood Culture Systems for the Diagnosis of Systemic Mycoses Associated with AIDS. *J Mycol Méd* 1997; 7: 134-136.
17. **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: 636-640.
18. **Navarro EE, Almario JS, King C, et al.** Detection of Candida Cast in Experimental Renal Candidiasis: Implications for the Diagnosis and Pathogenesis of upper Urinary Tract Infection. *J Med Vet Mycol* 1994; 32: 415-426.
19. **Menichetti F, Del Favero A, Martino P y col.** Itraconazole Oral Solution as Prophylaxis for Fungal Infections in Neutropenic Patients with Hematologic Malignancies: A Randomized, Placebo-Controlled, Double-Blind, Multicenter Trial. *Clin Infect Dis* 1999; 28: 250-5.
20. **Hughes WT, Armstrong D, Young LS et al.** 2002 Guidelines for the Use of Antimicrobial Agents in Neutropenic Patients with Cancer. *Clin Infect Dis* 2002; 34: 730-51.