



Universidad de Valladolid

FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA,
OFTALMOLOGÍA, OTORRINOLARINGOLOGÍA
Y FISIOTERAPIA

TESIS DOCTORAL

**IMPORTANCIA DEL ESTADO INMUNE Y RECuento
LINFOCITARIO COMO FACTOR DE RIESGO DE MORTALIDAD
EN PACIENTES CON CANDIDEMIA.**

Presentada por Beatriz Cano Hernández para optar al

Grado de Doctor por la

Universidad de Valladolid

Dirigida por:

DR. D. EDUARDO TAMAYO GÓMEZ

DRA DÑA. MARÍA HEREDIA RODRÍGUEZ

DR. D. CHRISTIAN JOSEPH ORTEGA LOUBON

VALLADOLID, 2020

CERTIFICADO DE DIRECTORES



AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR/A DE TESIS

(Art. 7.2 de la Normativa para la presentación y defensa de la Tesis Doctoral en la UVa)

D./D^a , con D.N.I./Pasaporte

Profesor/a del departamento de

Centro

Dirección a efecto de notificaciones

e-mail

como Director(a) de la Tesis Doctoral titulada

realizada por D./D^a

alumno/a del Programa de Doctorado

autoriza su presentación, considerando que

Valladolid,

El/La Director/a de la Tesis,

Fdo.: **TAMAYO GOMEZ**
EDUARDO -
13088744L

Firmado digitalmente por TAMAYO GOMEZ EDUARDO - 13088744L
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, serialNumber=IDCES-13088744L, givenName=EDUARDO, sn=TAMAYO GOMEZ, cn=TAMAYO GOMEZ EDUARDO - 13088744L
Fecha: 2020.01.15 08:06:52 +01'00'

SR/SRA. PRESIDENTE/A DE LA COMISIÓN DE DOCTORADO



AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR/A DE TESIS

(Art. 7.2 de la Normativa para la presentación y defensa de la Tesis Doctoral en la UVa)

D./D^a , con D.N.I./Pasaporte

Profesor/a del departamento de

Centro

Dirección a efecto de notificaciones

e-mail

como Director(a) de la Tesis Doctoral titulada

realizada por D./D^a

alumno/a del Programa de Doctorado

autoriza su presentación, considerando que

reúne todos los requisitos para su defensa

Valladolid,

El/La Director/a de la Tesis,

Fdo.:
**HEREDIA
RODRIGUEZ
MARIA - DNI
70879384P**

Firmado digitalmente por HEREDIA RODRIGUEZ MARIA - DNI 70879384P
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, o=UNIVERSIDAD DE VALLADOLID, ou=CERTIFICADO ELECTRONICO DE EMPLEADO PUBLICO, serialNumber=DCES-70879384P, sn=HEREDIA RODRIGUEZ, givenName=MARIA, cn=HEREDIA RODRIGUEZ MARIA - DNI 70879384P
Fecha: 2020.01.15 13:49:38 +01'00'

SR/SRA. PRESIDENTE/A DE LA COMISIÓN DE DOCTORADO



AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE TESIS

(Art. 7.2 de la Normativa para la presentación y defensa de la Tesis Doctoral en la Uva)

D. Christian Joseph Ortega Loubon, con D.N.I. Y2926717G, con dirección de correo electrónico a efecto de notificaciones christlord26@gmail.com, como Director de la Tesis Doctoral titulada **“IMPORTANCIA DEL ESTADO INMUNE Y RECUENTO LINFOCITARIO COMO FACTOR DE RIESGO DE MORTALIDAD EN PACIENTES CON CANDIDEMIA”**, realizada por Dña. Beatriz Cano Hernández con 71166000-K, alumna del Programa de Doctorado en Investigación en Ciencias de la Salud, **autoriza** su presentación, considerando que reúne todos los requisitos para la presentación, lectura y defensa de la misma.

Valladolid, 15 de Enero de 2020

El Director de la Tesis,

Fdo.: Dr. D. Christian Joseph Ortega Loubon

SR/SRA. PRESIDENTE/A DE LA COMISIÓN DE DOCTORADO

A mis padres

AGRADECIMIENTOS

No puedo comenzar mis agradecimientos sin dedicarle las primeras líneas a mi director de Tesis Doctoral el Dr. E. Tamayo Gómez, gracias Eduardo por ayudarme en mis primeros pasos en la investigación, sin ti este trabajo no hubiera sido posible.

Al Dr. Christian Joseph Ortega Loubon, desde que comenzaste en este proyecto como director me has impulsado a continuar con muchas más ganas e ilusión, gracias.

A mi querida compañera y directora de tesis la Dra. María Heredia Rodríguez, gracias por enseñarme a aunar la práctica clínica y la investigación siempre desde el trabajo, el respeto y el compañerismo.

Cómo olvidarme de mis compañeros del servicio de Anestesiología y Reanimación del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, donde me he formado como profesional y una gran parte de mi persona. En especial quería agradecer su colaboración en este estudio a Rodrigo Poves Álvarez, Sara Balbás Álvarez y Patricia Román García, sin vosotros este trabajo hubiera sido muy difícil.

A la Dra. M. Fe Muñoz Moreno, gracias por tu inestimable aportación en el análisis estadístico, siempre tan dispuesta al trabajo y ayudando en todo lo que pudiste, gracias.

A mis compañeros del Hospital de Medina del Campo, gracias por vuestra compañía en cada día de trabajo, gracias por enseñarme que lo más importante no es ser el mejor en algo sino hacerlo lo mejor posible desde la humildad y el compañerismo. En especial quiero mencionar a la Dra. M. Luz Martín Esteban y al Dr. Juan Ramón Gómez López, gracias por apoyarme y darme vuestros consejos con tanto cariño.

A todos los pacientes que habéis participado en el estudio, sois los principales protagonistas, gracias a vosotros y por vosotros se ha podido llevar a cabo esta investigación.

Y finalmente, mi mayor agradecimiento quiero dedicárselo a toda mi familia.

A vosotros Manolo y Maribel, mi padre y mi madre, que desde que nací os habéis desvivido porque cumpliera cada uno de mis sueños, que me habéis apoyado en cada

decisión, aplaudiéndome cuando acertaba y corrigiéndome en las equivocaciones dándome siempre una mano para levantarme y seguir. Me habéis enseñado que el trabajo y el esfuerzo es el único camino para conseguir los logros y que siempre deben ir de la mano de la humildad, del agradecimiento y del corazón. Sois el mejor regalo que la vida me ha podido dar. GRACIAS.

A mi marido, Rodrigo, que es la alegría de cada día. Desde que te conozco todo lo que sucede se ve de otro color, juntos nos apoyamos en lo bueno y en lo malo, respetándonos, queriéndonos y siendo felices “sólo por hoy” todos los días de nuestra vida.

Empieza por hacer lo necesario, luego haz lo posible

Y de pronto estarás logrando lo imposible

San Francisco de Asís

ÍNDICE

LISTADO DE ABREVIATURAS	21
ÍNDICE DE TABLAS	25
ÍNDICE DE FIGURAS	27
RESUMEN	29
I. INTRODUCCIÓN	33
I.1 Infección nosocomial	35
I.1.1 Definición de infección nosocomial	35
I.1.2 Epidemiología de las infecciones nosocomiales.....	36
I.2. Candidemia	39
I.2.1 Definición y epidemiología	39
I.2.2 Patogenia de la candidemia.....	45
I.2.4 Candidemia y Sepsis.....	52
I.2.4.1 Definición de sepsis y shock séptico.....	52
I.2.4.2. Epidemiología de la sepsis y el shock séptico	53
I.2.4.3 Respuesta inmunitaria durante la sepsis.....	54
I.2.5 Diagnóstico de candidemia.....	56
I.2.5.1 Métodos Convencionales: el cultivo de la especie <i>candida</i>	57
I.2.5.2. Métodos Alternativos al cultivo de especie <i>candida</i>	63
I.2.6 Tratamiento de la candidemia.....	67
I.2.6.1 Factores de riesgo de candidemia	67
I.2.6.2 Antifúngicos utilizados en candidemia	72
I.2.6.3 Guías de tratamiento IDSA y ESCMIC (126, 132).....	73
I.2.6.4 Nuevos biomarcadores y tratamientos para candidemia.....	74
II. JUSTIFICACIÓN	77
III. OBJETIVOS	81

III.1 Objetivo principal	83
III.2 Objetivos secundarios	83
IV. MATERIAL Y MÉTODO	85
IV.1 Diseño del estudio y población a estudio	87
IV.1.1 Criterios de inclusión	87
IV.1.2 Criterios de exclusión	87
IV.2 Definición de las variables del estudio.....	88
IV.2.1 Variable principal.....	88
IV.2.2 Variables secundarias.....	88
IV.3 Análisis estadístico.....	90
V. RESULTADOS	93
V.1 Características de la población de estudio.....	95
V.2 Características clínicas intrahospitalarias.....	97
V.3 Impacto del recuento de linfocitos en la mortalidad y la supervivencia.....	99
V.4 Análisis de riesgo de mortalidad.....	101
VI. DISCUSIÓN	105
VI.1 Características de los pacientes con candidemia	107
VI.2 Incidencia de candidemia	108
VI.3 Tasa de mortalidad.....	109
VI.4 Factores relacionados con la mortalidad.....	111
VI.5 Limitaciones del estudio.....	122
VI.6 Aplicación de los resultados y futuros estudios	122

VII. CONCLUSIONES	125
VIII. BIBLIOGRAFÍA	129
IX. ANEXOS.....	159
IX.1 Certificado de publicación.....	161
IX.2 Publicación.....	165
IX.3 Documento de aprobación del proyecto de investigación.....	179

LISTADO DE ABREVIATURAS

AaDO₂: Gradiente alveólo-arterial de oxígeno.

ADN: Material genético ácido desoxirribonucleico

APACHE: Acrónimo del inglés “*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*”

BG: Componente de la pared celular fúngica 1,3-β-d-glucano

BSI: Del acrónimo en inglés, “*Bloodstream infection*”, bacteriemia

CART: del acrónimo en inglés, “*Classification and Regression Trees*”, análisis de árbol de clasificación y regresión.

Cels: Células

CoNs: Del acrónimo en inglés, “*Coagulase-negative staphylococci*”, estafilococo coagulasa negativo.

CPA: Células presentadoras de antígenos

CVC: Catéter de vía venosa central

Dopa: Dopamina

ESCMID: del acrónimo en inglés, “*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*”, Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas.

ELISA: Del acrónimo en inglés “*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*”, ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas

EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica

ES: Error estándar

FiO₂: Fracción inspirada de oxígeno

IC: Intervalo de confianza

IDSA: Del acrónimo en inglés “*Infectious Diseases Society of America*” Sociedad Americana de enfermedades infecciosas

IFN- γ : Interferon gamma

Ig: Inmunoglobulina

IL-X: Interleucinas de diferentes tipos.

IQR: Del acrónimo del inglés “*Interquartile Rank*”, Rango intercuartílico.

LCR: Líquido cefalorraquídeo

Linfo: Linfocitos

MHC: Del acrónimo del inglés “*Major Histocompatibility Complex*”, Complejo Mayor de Histocompatibilidad.

NA: Noradrenalina

NPT: Nutrición parenteral total.

°C: Grados *Celsius*

OR: Odds ratio

PAM: Presión arterial media,

PAMP: Patrones moleculares constantes asociados a patógenos

PaO₂: Presión arterial de oxígeno,

PAS: Proteinasa aspárticas secretadas

PCR: del acrónimo en inglés “*Polymerase Chain Reaction*”, reacción en cadena de la polimerasa.

Resp/min: Respiraciones por minuto

ROS: del acrónimo en inglés “*Reactive oxygen species*”, especies reactivas de oxígeno

RR: Riesgo relativo

RRP: Receptores reconocedores de patrones

Sat O₂: Saturación arterial de oxígeno,

SEIMC: Sociedad Española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica

SOFA: Del acrónimo en inglés “*Sequential Organ Failure Assessment*”, Evaluación secuencial de insuficiencia orgánica

T^a: Temperatura

Th1-2: Linfocito T colaborador tipo1 o tipo2

TLR: Del acrónimo en inglés “*Toll like receptor*”, receptores tipo “*toll*”

TNF: Factor de necrosis tumoral

TNM: clasificación de fase tumoral: T hace referencia a tamaño; N a extensión a ganglios linfáticos y M a la aparición de metástasis.

Treg: Linfocitos tipo T reguladores

TSR: Terapia de sustitución renal

UCI: Unidad de cuidados intensivos

VIH: Virus de inmunodeficiencia humana

VMP: Ventilación mecánica prolongada

VPN: Valor predictivo negativo

VPP: Valor predictivo positivo

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1. Incidencia, distribución y mortalidad de las bacteriemias nosocomiales en eeuu en 2003.....	38
TABLA 2. Frecuencia de las diferentes especies candida en el estudio Cisterna et al..	43
TABLA 3. Susceptibilidad de las especies <i>candida</i> a fluconazol y equinocandinas.....	44
TABLA 4. Escala de valoración de afectación orgánica SOFA	52
TABLA 5. Criterios de <i>quick</i> SOFA.....	53
TABLA 6. Recomendaciones de Ayats <i>et al.</i> para el diagnóstico de infecciones fúngicas con métodos convencionales	60
TABLA 7. Recomendaciones y grados de evidencia de las técnicas alternativas al cultivo para el diagnóstico de candidemia	66
TABLA 8. Escala APACHE II	68
TABLA 9. Factores extrínsecos de riesgo para candidemia.....	69
TABLA 10. CANDIDA SCORE	70
TABLA 11. Score OSTROSKY -ZEICHNER.....	71
TABLA 12. Recomendaciones de la IDSA y ESCMID para el tratamiento de candidemia en pacientes no neutropénicos	74
TABLA 13. Características demográficas y comorbilidad de los pacientes con candidemia	96
TABLA 14. Variables registradas durante el ingreso hospitalario.	97
TABLA 15. Variables relacionadas con el diagnóstico y tratamiento durante el ingreso hospitalario.....	98
TABLA 16. Especies <i>candida</i> registradas en hemocultivos de pacientes con candidemia.	98

TABLA 17. Recuento linfocitario durante los primeros cinco días desde el diagnóstico de candidemia.....	99
TABLA 18. Análisis de regresión univariante para mortalidad asociada con candidemia	101
TABLA 19. Análisis de regresión multivariable para la mortalidad asociada con la candidemia utilizando linfocitos como variable dicotómica.....	102
TABLA 20. Modelo de predicción de mortalidad a los 30 días. adaptación de KEIGHLEY <i>et al.</i>	116

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. Taxonomía de la especie fúngica <i>candida</i>	39
FIGURA 2. La proporción de todas las hospitalizaciones debidas a candidemia por grupo de edad entre 2000-2005 en EEUU	41
FIGURA 3. Incidencia de candidemia en Islandia del año 2000 al 2011 (48). Figura(3a) casos totales por año. Figura (3b) casos totales por rango de edad.....	42
FIGURA 4. Representación de la trama lineal de las tasas de <i>candida albicans</i> y <i>candida no-albicans</i>	44
FIGURA 5. Esquema de las capas celulares de <i>candida albicans</i>	45
FIGURA 6. Esquema de las diferentes barreras que atraviesa <i>candida spp</i> hasta llegar al torrente sanguíneo y causar candidemia.....	46
FIGURA 7. TLR implicados en el reconocimiento de especies <i>candida</i>	48
FIGURA 8. RRP dectinas implicadas en el reconocimiento de especies <i>candida</i>	48
FIGURA 9. Diagrama de las diferenciaciones de linfocito cd4+ dependiendo de las diferentes citoquinas.....	50
FIGURA 10. Esquema de los diferentes pasos de la respuesta innata y adaptativa contra la invasión de especie <i>candida</i>	51
FIGURA 11. Esquema de la afectación de la inmunidad innata y adaptativa en sepsis	56
FIGURA 12. Días de crecimiento y de positividad del hemocultivo para las diferentes especies <i>candida</i>	58
FIGURA 13. Cultivo de diferentes especies <i>candida</i>	61
FIGURA 14. Cultivo de <i>candida</i> en medio de cultivo agar glucosado de Sabouraud... ..	61

FIGURA 15. <i>Candida albicans</i> en placa cromogénica	62
FIGURA 16. Cultivo de <i>candida</i> con tinción cromogénica	62
FIGURA 17. Amplificación de la región ASL3 del ADN de <i>candida albicans</i> (PCR)..	63
FIGURA 18. Método diagnóstico de Fungitell:	64
FIGURA 19. Técnica elisa para el diagnóstico de candidemia.....	65
FIGURA 20. Árbol de decisión generado por el análisis del árbol de clasificación y regresión (CART), estratificando el conteo de linfocitos.....	100
FIGURA 22. Supervivencia de pacientes con candidemia atendiendo al-recuento de linfocitos el primer día del diagnóstico (D1) y el quinto (D5).....	100
FIGURA 23. Modelo de regresión logística multivariable para recuento de linfocitos $0,703 \times 10^9$ células/l en el diagnóstico (a), y recuento de linfocitos $1,272 \times 10^9$ células / l para el día 5 (b)	103

RESUMEN

Introducción

La candidemia es la infección del torrente sanguíneo por el hongo de la especie *candida* que se asocia a una elevada mortalidad, hasta del 70% en pacientes sépticos ingresados en Unidades de Cuidados Intensivos (8) y a un incremento del gasto sanitario como consecuencia del desarrollo de mayor número de complicaciones por parte de los pacientes y de la prolongación de su estancia hospitalaria (9-11).

Representa el 9% de todas las infecciones nosocomiales del torrente sanguíneo, considerándose como la cuarta causa de infección sanguínea diseminada en los pacientes hospitalizados en los Estados Unidos (EEUU), la séptima en Europa, y la tercera en pacientes ingresados en la UCI (12-14). Además, su incidencia a nivel mundial va en aumento (15, 16). Se ha descrito una incidencia de candidemia de 1,55 casos por cada 1000 ingresos en Italia, 0,89 casos por mil ingresos en España y de 6,7 casos de candidemia adquirida en UCI de Francia por cada 1000 ingresos (17, 18)-

Varios trabajos han identificado la asociación de factores como neutropenia, estado séptico, cirugías, tratamiento con nutrición parenteral y antibioterapia de amplio espectro, con la probabilidad de padecer candidemia. También se han realizado escalas diagnósticas y guías de tratamiento, ya que el tratamiento adecuado y precoz parece mejorar los resultados de supervivencia en este tipo de pacientes (19-21). Sin embargo, también existen trabajos que discuten que el tratamiento antifúngico actual no es suficiente para mejorar los resultados de supervivencia de candidemia (22-24).

Durante esta infección se produce estado de inmunosupresión como consecuencia del aumento de la apoptosis de linfocitos (4). Hay estudios que han asociado linfopenia con mortalidad en pacientes con sepsis y con neumonía (25-28) . Otros trabajos han demostrado que el tratamiento con interleucinas potencia la proliferación de linfocitos y por tanto la supervivencia de pacientes con candidemia (6, 29, 30).

Teniendo en cuenta la elevada incidencia y mortalidad de candidemia y su patogenia, nuestro estudio tuvo como objetivo determinar si el recuento de linfocitos es un predictor independiente de mortalidad hospitalaria en pacientes con candidemia.

Material y Métodos

Tras haber recibido la aprobación del Comité de Ética de la Investigación, realizamos un estudio observacional retrospectivo de registros médicos computarizados de pacientes con hemocultivos positivos para especie *candida* en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Se incluyeron todos los pacientes ingresados en el hospital de enero de 2007 a diciembre de 2016 con hemocultivos positivos para *candida* mayores de 18 años, de raza caucásica mediterránea y no inmunodeprimidos.

Recogimos diversas variables como edad, sexo, comorbilidades, colocación de catéter de vía central, nutrición parenteral, shock séptico, ventilación mecánica prolongada o terapia de sustitución renal, puntuación de Candida Score y Ostrosky-Zeichner y el tratamiento con equinocandinas. Registramos los recuentos de linfocitos del paciente obtenidos durante los primeros cinco días después del diagnóstico de candidemia.

La muestra se dividió en supervivientes y no supervivientes a los 30 días del diagnóstico. Para determinar las diferencias entre los grupos se utilizaron la prueba de Chi-cuadrado o exacta de Fisher (cuando las frecuencias esperadas eran <5) para variables categóricas y las pruebas T de Student o U de Mann-Whitney para variables continuas de acuerdo con los criterios de normalidad.

Aquellas variables que obtuvieron significación estadística ($p < 0,05$) en el análisis de regresión logística univariante, se incluyeron en un modelo de regresión logística multivariable utilizando una selección gradual de predictores de mortalidad a los 30 días ($p < 0,05$).

Con respecto al recuento de linfocitos, el valor de corte óptimo (mayor asociación con la mortalidad por candidemia) se obtuvo mediante el análisis del árbol de clasificación y regresión (CART). La capacidad de este valor de corte para predecir la mortalidad por candidemia a los 30 días se evaluó adicionalmente mediante el uso de análisis de regresión logística multivariante. La calibración del modelo se evaluó mediante la prueba

de Hosmer-Lemeshow. Las curvas de Kaplan-Meier se trazaron para mostrar las probabilidades de supervivencia de 30 días según los recuentos de linfocitos.

Resultados

Se diagnosticaron un total de 296 casos de candidemia entre 2007 y 2016, con una incidencia de 1,15 por cada 1000 ingresos. De ellos el 59,4% eran varones. La edad media global de presentación fue de 63 ± 17 años. Un 38,9% (115 pacientes) murieron en 30 días desde el diagnóstico de candidemia. Los que no sobrevivieron eran de mayor edad (OR, 1,03; IC del 95%, 1,02 a 1,05), necesitaron con mayor frecuencia ventilación mecánica prolongada (VMP) (>48h) (OR, 2,73; IC del 95%, 1,69 a 4,43), desarrollaron con más frecuencia shock séptico (OR, 2,95; IC del 95%, 1,81 a 4,80) y sus puntuaciones de Candida Score fueron más altas (OR, 1,28; IC 95%, 1,13 a 1,45) en comparación con los supervivientes.

El análisis CART identificó un recuento de linfocitos $<0,703 \times 10^9$ células / L en el momento del diagnóstico y $<1,272 \times 10^9$ células / L cinco días después como valor de corte óptimo de linfocitos que se relacionan con un mayor riesgo de mortalidad por candidemia.

El análisis de regresión multivariable confirmó que la terapia con ventilación mecánica prolongada, (OR, 3,07; IC 95%, 1,44-6,51 $p \leq 0,001$), la edad (OR 1,49; IC del 95%, 1,02 a 1,08 $p \leq 0,001$) y un recuento bajo de linfocitos se asociaban de forma independiente con la mortalidad en pacientes con candidemia. En el momento del diagnóstico, un recuento de linfocitos $<0,703 \times 10^9$ células / L se asociaban a una mortalidad 5,01 veces mayor (OR, 5,01; IC 95%, 2,29 a 10,93 $p \leq 0,001$) y un recuento de linfocitos $<1,272 \times 10^9$ células/L 5 días después del diagnóstico a una mortalidad 3,27 veces mayor (OR, 3,27; IC del 95%, 1,24 a 8,62; $p \leq 0,001$).

Se estudió la sensibilidad y especificidad de estos valores de corte de linfocitos evaluando las aéreas bajo la curva de curvas ROC. Los resultados fueron los siguientes, AUC-ROC de 0,783 (IC 95%, 0,700-0,867, $p < 0,001$) al diagnóstico y AUC-ROC 0,791 (IC 95%, 0,716-0,866, $p < 0,001$) 5 días después.

Conclusiones

La Mortalidad a los 30 días de los pacientes con candidemia es elevada (38,9%). La edad, VMP y un recuento bajo de linfocitos, se asocia con un mayor riesgo de mortalidad. Un recuento linfocitario $< 0,703 \times 10^9$ células /L el día de diagnóstico y $< 1,272 \times 10^9$ células/L a los 5 días se asocia a una probabilidad de morir de 5 y 3 veces mayor respectivamente.

Teniendo en cuenta que el recuento linfocitario es un análisis rutinario que no supondría un gasto adicional y la posibilidad de la incorporación de la inmunoterapia en el tratamiento habitual de la candidemia en un futuro cercano, los resultados de nuestro estudio podrían ayudar a los clínicos en la indicación de tratamiento antifúngico convencional único, inmunoterapia única o la combinación de ambos, para así mejorar los resultados de incidencia, mortalidad, estancia hospitalaria y gastos sanitarios asociados a esta infección fúngica.

I. INTRODUCCIÓN

I.1 Infección nosocomial

I.1.1 Definición de infección nosocomial

Las infecciones nosocomiales son aquéllas que se adquieren en el ámbito hospitalario o sanitario que no estaban presentes al ingreso del paciente, sino que se presentan transcurridas en las primeras 48 horas desde su ingreso o atención sanitaria (31).

Para definir una infección en un paciente no hospitalizado como nosocomial, nos apoyamos en los criterios descritos por Friedman *et al.* Este autor realizó un estudio observacional prospectivo entre octubre de 2000 y febrero de 2001 en tres hospitales de Carolina del Norte donde participaron 504 pacientes con bacteriemias y se clasificaron como comunitarias o nosocomiales (32). Considera infección nosocomial, la bacteriemia que sucede en:

- Hospitalización a domicilio con tratamiento endovenoso.
- Cuidados especializados de herida en un centro ambulatorio.
- Hemodiálisis ambulatoria.
- Tratamiento con quimioterapia en los 30 días previos a la bacteriemia.
- Ingreso en un hospital de agudos durante 2 o más días en los 90 días previos a la bacteriemia.
- Residencia en un centro geriátrico o de larga estancia.

En la actualidad las infecciones nosocomiales son un problema de salud pública ya que afectan a un gran número de pacientes anualmente y están asociadas a un considerable aumento de la morbilidad, tiempo de estancia hospitalaria y mortalidad. Todo ello conlleva un gasto elevado de recursos sanitarios con aumento de los costes directos e indirectos (33).

I.1.2 Epidemiología de las infecciones nosocomiales

Debido al gran impacto sanitario y económico que suponen las infecciones nosocomiales, se ha realizado un estudio de prevalencia de las infecciones en las unidades de cuidados intensivos a nivel europeo llamado por sus siglas EPIC y un estudio de prevalencia de las infecciones nosocomiales en España, llamado a partir de sus siglas EPINE. En este último se han recogido 61.673 pacientes procedentes de 313 hospitales, entre el año 1990 y 2017, a partir de los cuales se ha obtenido la prevalencia de las diferentes infecciones desarrolladas en el ámbito hospitalario, estudiándose su distribución según las características de los pacientes, de los centros hospitalarios, de las diferentes unidades dentro del centro. y según los microorganismos causantes de las diferentes infecciones.

En España, el 5,39% de los pacientes hospitalizados o que reciben asistencia sanitaria sufren una infección nosocomial. Este riesgo aumenta en pacientes mayores de 65 años (6,07%), en aquéllos que tienen comorbilidad asociada (coma, insuficiencia renal, diabetes, neoplasia, EPOC, inmunodeficiencias, úlcera por presión...), que han tenido antibioterapia previa, cirugía invasiva urgente y estancia en unidades de cuidados intensivos en las cuales la prevalencia de infecciones nosocomiales es de 19,01% (34, 35).

A nivel europeo se han realizado dos estudios de prevalencia de las infecciones nosocomiales en unidades de cuidados intensivos, EPIC I en el año 1992 en el que participaron 10.038 pacientes ingresados en 1.417 UCI de 17 países europeos y el estudio EPIC II desarrollado en el año 2007 que incluyó 14.414 pacientes de 1.265 unidades de cuidados intensivos de 75 países europeos. El primer trabajo concluyó que el 20,6% de los pacientes adquirieron una infección durante su ingreso en la unidad, siendo la más prevalente fue la infección pulmonar (neumonía 46,9%, infección de vías respiratorias bajas 17,8%) seguida de infecciones del tracto urinario (17,6%) y bacteriemias (12%). Sin embargo, en el estudio EPIC II, las infecciones intrabdominales adquirieron el segundo puesto en frecuencia seguidas de las bacteriemias nosocomiales (33, 36).

La elevada proporción de infecciones nosocomiales en las unidades de cuidados intensivos con respecto a la definida en planta, es debida a diferentes factores. Los pacientes que llegan a este tipo de unidades presentan numerosas comorbilidades (coma,

insuficiencia renal crónica, diabetes, neoplasias, EPOC, úlceras por presión y estado de sepsis), sufren técnicas invasivas y portan diferentes dispositivos como sondas nasogástricas o urinarias y catéteres venosos centrales. La mayoría de ellos reciben, en algún momento de su ingreso, antibioterapia de amplio espectro, ventilación mecánica y/o tratamiento sustitutivo renal (37). Todos estos factores hacen que la probabilidad de infección nosocomial aumente exponencialmente y que finalmente acaben desarrollando sepsis y/o shock séptico aumentando así la estancia en estas unidades, mortalidad y costes sanitarios.

En Estados Unidos, en un estudio realizado en 2002, se describieron 1,7 millones de infecciones nosocomiales anuales, que provocaron 98.987 muertes e incremento de costes económicos de cientos de miles de dólares (38). Las bacteriemias en este país adquieren mayor protagonismo pudiendo llegar al 36% en pacientes inmunodeprimidos y presentado una mortalidad de 35% al 53%(12) .

Wisplinghoff *et al.* llevó a cabo un el trabajo de investigación sobre las bacteriemias nosocomiales realizado en EEUU del año 1995 a 2002 en el que participaron 24.179 pacientes ingresados de 45 hospitales de EEUU. Según este estudio las los patógenos aislados en los hemocultivos de los pacientes con bacteriemia ingresados en UCI en EEUU fueron el 65% gran positivos, el 25% gram negativos y el 9% especies fúngicas. Dentro de los gran positivos el microorganismo que presenta mayor incidencia es el Estafilococo Coagulasa Negativo (CoNS) (35,9%), seguido por Estafilococo *Aureus* (16,8%) y especies de enterococos (9,8). *Escherichia Coli* y diferentes especies de *Klebsiella* fueron las predominantes dentro de los Gram negativos (12) (Tabla 1)

Tabla 1. Incidencia, distribución y mortalidad de las bacteriemias nosocomiales en EEUU en 2003.

Patógeno	BSI por 10.000 ingresos	Total % de BSI n=20,978	UCI % de BSI N=10.515	Mortalidad % Total	Mortalidad % UCI
<i>CoNS</i>	15,8	31,3	35,9	20,7	25,7
<i>S. aureus</i>	10,3	20,2	16,8	25,4	34,4
<i>Enterococcus</i>	4,8	9,4	9,8	33,9	43,0
<i>Candida</i>	4,6	9,0	10,1	39,2	47,1
<i>E. coli</i>	2,8	5,6	3,7	22,4	33,9
<i>Klebsiella</i>	2,4	4,8	4,0	27,6	37,4
<i>P. Aeruginosa</i>	2,1	4,3	4,7	38,7	47,9
<i>Enterobacter</i>	1,9	3,9	4,7	26,7	32,5
<i>Serratia</i>	0,9	1,7	2,1	27,4	33,9
<i>A. baumannii</i>	0,6	1,3	1,6	34,0	43,4

Adaptación del estudio de Wisplinghoff (12). Abreviaturas: BSI del inglés “Nosocomial bloodstream infections”, bacteriemia nosocomial; CoNS del inglés “Coagulase-negative staphylococci”, estafilococo coagulasa negativo.

Las bacteriemias causadas por levaduras son mayoritariamente debidas a especies *candida* (70%) (14) y se han convertido en las últimas décadas en la cuarta causa de bacteriemia de las unidades de cuidados críticos en Estados Unidos y la séptima en Europa, llegando a provocar una mortalidad del 40% (12-14).

I.2. Candidemia

I.2.1 Definición y epidemiología

Candida spp., pertenece al reino *fungi* y es de la familia de *Cryptococcaceae*. Podemos encontrar este tipo de hongo en la comida, vegetación y animales interaccionando con el ser humano constantemente. Hay 150 especies *candida* y son clasificadas como levaduras. Crecen de manera asexual, en forma de células ovales, de pared fina y que se dividen por gemación. Pero también se han observado en los tejidos infectados formas filamentosas de longitud variable, por lo que podemos decir que la especie *candida* es un hongo “polimórfico”, cualidad que le hace especialmente virulenta frente al ser humano. (39). (Fig.1)

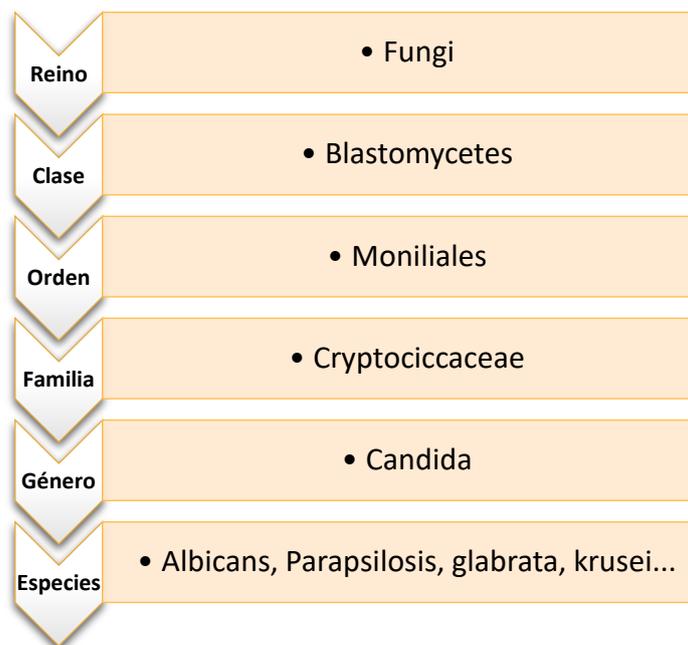


Figura 1. Taxonomía de la especie fúngica *Candida*

Candidemia es una infección sanguínea de elevada mortalidad que es provocada por la colonización de la especie fúngica *Candida*. Es una seria complicación tanto en las unidades de hospitalización convencionales como en las unidades de cuidados intensivos donde es más prevalente (14, 40, 41) y donde puede llegar a presentar una mortalidad del 22 al 75% de los pacientes que la sufren (42-46). Esta infección sanguínea es responsable de un gran porcentaje de las infecciones nosocomiales y conlleva una prolongada estancia hospitalaria, mortalidad y costes económicos sanitarios.

A pesar de los diferentes estudios y protocolos realizados para el control de esta infección, la incidencia y la mortalidad sigue siendo muy altas, por todo ello es por lo que es considerada un problema público.

Rentz *et al.* en el año 1998 en un estudio de casos y controles en EEUU, estimó un aumento de los costes derivado de la infección fúngica de 44.536 dólares por paciente y 282 millones de dólares por año. La estancia hospitalaria asociada a candidemia fue de 34 días por paciente (47). Otro estudio estadounidense más reciente es el realizado por Morgan *et al.* que comparó 214 casos de Connecticut con 529 casos de Baltimore y describió una estancia hospitalaria derivada de infección fúngica de 3 a 13 días y los costes económicos de 45.000 a 77.534 dólares por caso de candidemia (10).

Ashley *et al.* realizó un trabajo de investigación en Texas (EEUU) sobre los costes hospitalarios que suponía la enfermedad fúngica invasora. Obtuvo que esta enfermedad supone un aumento de los costes por el tratamiento antifúngico del 14%, y por otros tratamientos asociados del 23%. También se demostró que el gasto derivado de la prolongación de la estancia hospitalaria se incrementa en un 21% y los costes de laboratorio en un 18% (11). En total obtuvo que los pacientes con enfermedad fúngica invasora en comparación con los controles suponían un incremento de los gastos hospitalarios de 32.196 \$.

En España, Olaechea *et al.* en un estudio prospectivo de cohortes y multicéntrico en el año 2004 observó que los pacientes que fueron colonizados por *candida* estuvieron 6,2 días más en la UCI y 8,6 días más en el hospital; los pacientes que fueron infectados por *candida* estuvieron 12,7 días más en la UCI y 5,5 días más en el hospital que los que no la sufrieron. Los costes por caso asociado a la colonización por *candida* fueron 8.000 € y los costes por caso asociado a la infección fueron 16.000 €(9).

La prevalencia de la candidemia ha ido aumentando en las últimas décadas., a pesar de los diferentes protocolos de tratamiento y la aparición de nuevos antifúngicos, En Estados Unidos tuvo una incidencia de 3,65 casos por 100.000 habitantes en el año 2000 que aumentó en el año 2005 hasta 5,56 casos por 100.000 habitantes, observándose este incremento en todos los grupos de edad (Fig.2)(15). En Islandia se observó un aumento similar, describiéndose 4,3 casos por 100.000 habitantes en 1998 y 5,70 en el año 2011. Por otra parte, se obtuvo mayor incidencia en pacientes varones mayores de 80 años (Fig.

3a y 3b) (16, 48). En Europa se describe una incidencia global de 8,6 casos por 100.000 habitantes al año (17, 49) y en las unidades de cuidados intensivos 7,7 casos por 1000 ingresos observando un aumento (15).

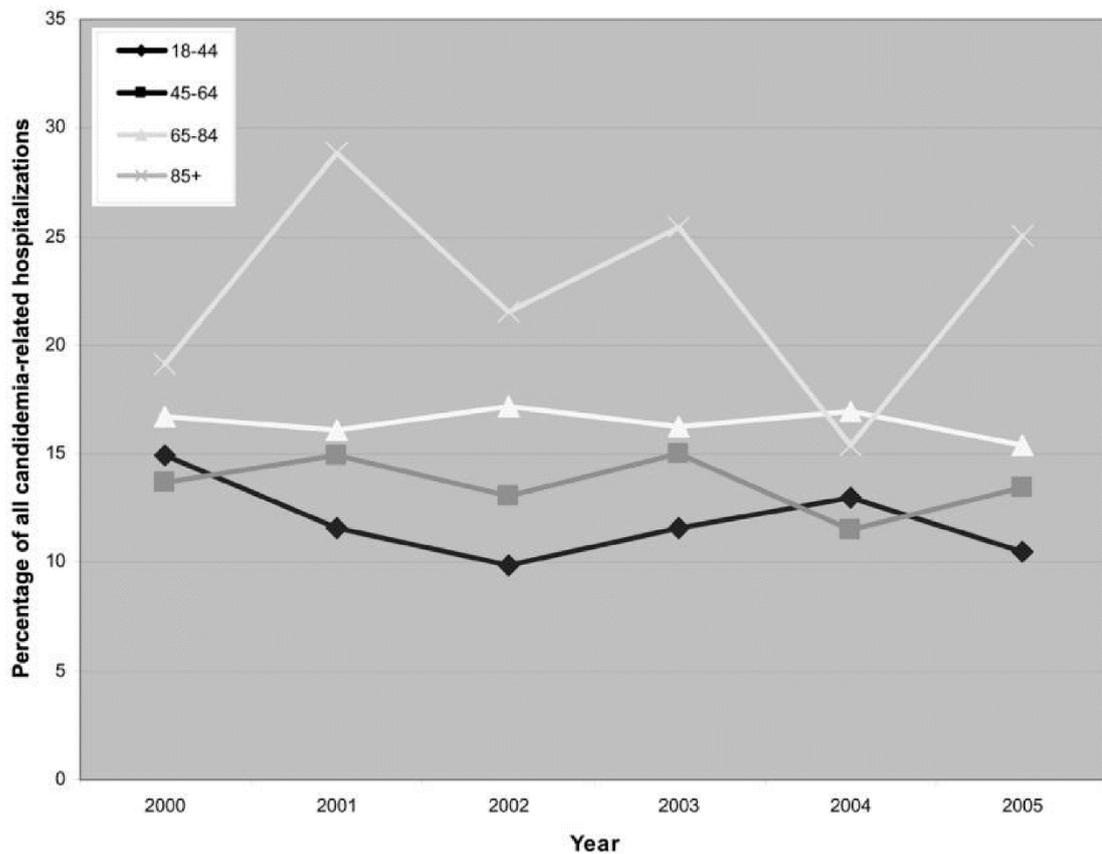


Figura 2. La proporción de todas las hospitalizaciones debidas a candidemia por grupo de edad entre 2000-2005 en EEUU(15)

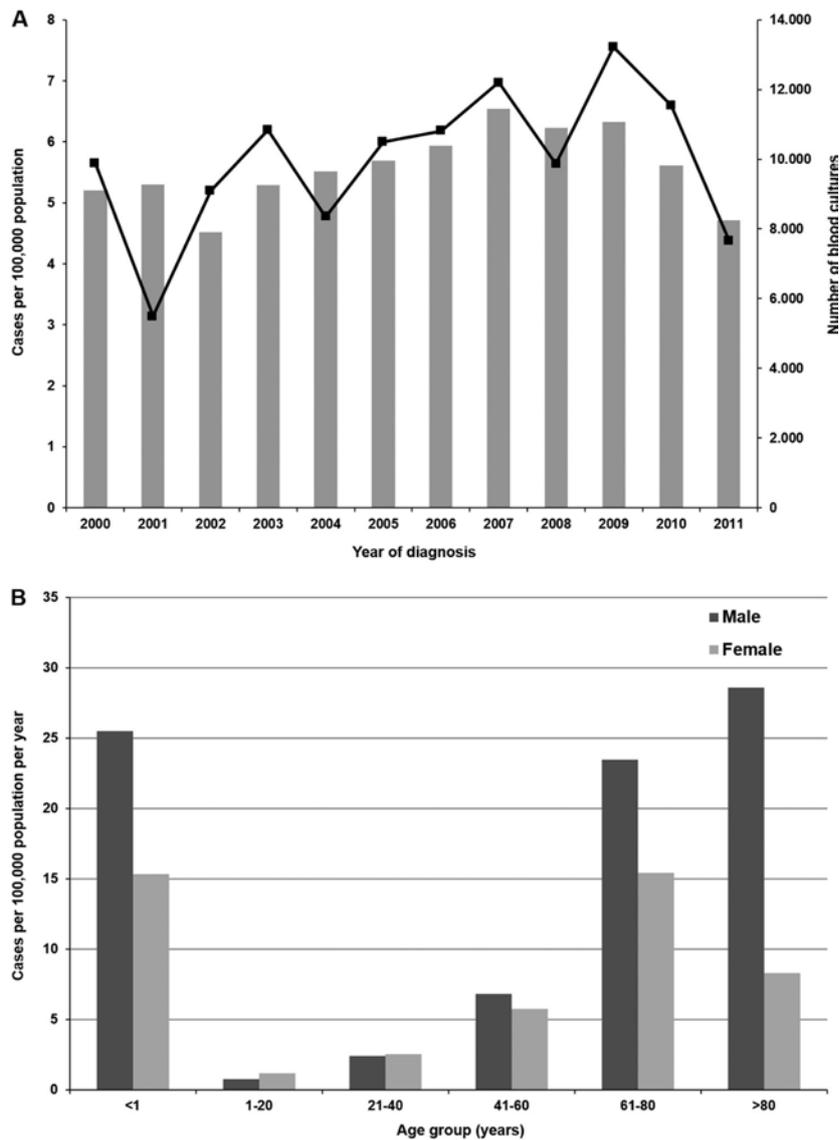


Figura 3. Incidencia de candidemia en Islandia del año 2000 al 2011 (48). Figura (3A) casos totales por año. Figura (3B) casos totales por rango de edad

Si valoramos la incidencia de candidemia en relación con los ingresos hospitalarios, Estados Unidos presenta una incidencia de 0,28 a 0,96 casos por 1000 ingresos, Canadá 0.45 casos por 1000 ingresos, Europa 0,20 a 1,09 casos por cada 1000 ingresos(15, 50, 51). Dentro de Europa, Francia muestra 0,17, Italia 0,80-1,55. y España 0,76 a 0,89 casos por cada 1000 ingresos (18, 52). En el estudio prospectivo entre 2010 y 2011 en el que participaron 29 hospitales españoles (20% de la población española) llamado CANDIPOP se observó una incidencia de 0,89 casos/1000 ingresos (49).

Según Cisterna *et al.* en el estudio epidemiológico realizado en 40 hospitales terciarios de España de 2008 a 2009 en el que se detectaron 984 candidemias, la candidiasis invasiva es causada en la mayoría de los casos por *candida albicans* (40-70%) (52-54) (tabla 2).

La segunda en frecuencia tanto en Estados Unidos como en Europa es *candida parapsilosis* (20,7%) (53, 55), que -es especialmente elevada en neonatos y en pacientes ingresados en UCI, ya que tienen predisposición a adherirse a catéteres de vías venosas centrales y a crecer en soluciones glucosadas como la nutrición parenteral (55-57). Otras especies menos frecuentes de *candida* son *candida glabrata* (13,6%) presente fundamentalmente en ancianos, con neoplasias y/o tratados anteriormente con antifúngicos como azoles (17, 53, 55, 58); la *candida tropicalis* (10,8%) y *candida krusei* (2,1%) son dos especies cuya incidencia está aumentando en pacientes con un estado de inmunodepresión importante, fundamentalmente pacientes ingresado en UCI y/o con neoplasias hematológicas (55). Existen otras especies *candida* pero detectadas aisladamente como *c. guilliermondii*, encontrada en pacientes que se han sometido a una cirugía cardiovascular o gastrointestinal (59) o *c. dubliniensis* que a menudo es confundida con *c.albicans* por su fenotipo (55).

Tabla 2. Frecuencia de las diferentes especies *candida* en el estudio Cisterna et al. (52)

Especies <i>candida</i>	n (% de casos)
<i>C. albicans</i>	483 (49)
<i>C. parapsilosis</i>	204 (20,73)
<i>C. glabrata</i>	134 (13,61)
<i>C. tropicalis</i>	106 (10,77)
<i>C. krusei</i>	21 (2,13)
Otras especies	36 (3,65)

La tendencia que ha seguido a lo largo de los últimos años la prevalencia hospitalaria de las distintas especies *candida*, parece orientar a una disminución progresiva de la especie *candida albicans*, dejando paso a una mayor presencia de las otras especies de *candida*, más invasoras, lo que supone un importante motivo de preocupación para la población sanitaria, ya que, en caso de colonizar, provocarán con mayor probabilidad candidemia que la especie *candida albicans* (60, 61) (Fig.4). Además, estas nuevas especies presentan tasas de resistencias mayores a los tratamientos antifúngicos clásicos como fluconazol, lo que supone un mayor riesgo de mal control del agente infeccioso, y desarrollo de fallo multiorgánico y muerte (61).

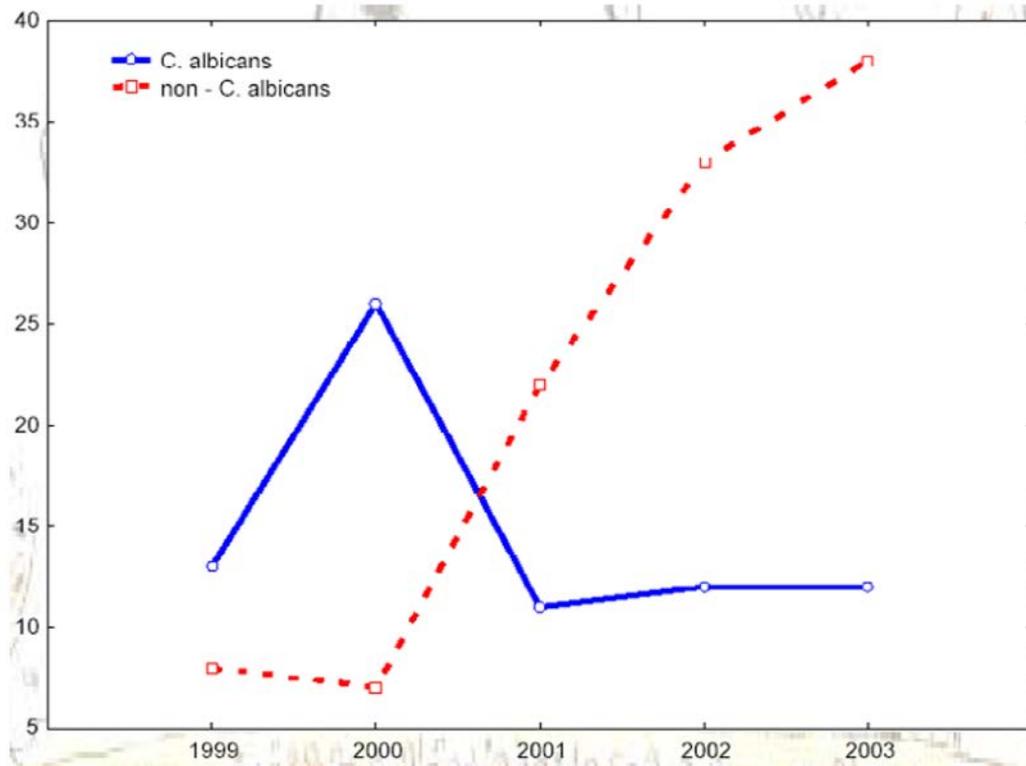


Figura 4. Representación de la trama lineal de las tasas de *candida albicans* y *candida no-albicans* durante el periodo de estudio(61).

La resistencia al Fluconazol, como antifúngico de referencia, ha sido estudiada por diferentes grupos que describen una tasa de resistencia por parte de las especies *candida* de aproximadamente 5% en EEUU (59) , 7% en Europa (62) y 8% en España (63). *C.krusei* es la especie que presenta mayor tasa de resistencia pudiendo llegar hasta el 60%. Rodriguez- Hernandez *et al.* en su estudio de candidemia en 16 hospitales andaluces describen una resistencia del 11% llegando al 75% en especie *c.krusei* (tabla 3) (64-66) (65) (67).

Tabla 3. Susceptibilidad de las especies candida a fluconazol y equinocandinas (66, 67)

Especie <i>candida</i>	Fluconazol	Equinocandina
<i>C. albicans</i>	S	S
<i>C. parapsilosis</i>	S	I
<i>C. glabrata</i>	SDD	S
<i>C. tropicalis</i>	S	S
<i>C. krusei</i>	R	S

Abreviaturas: S: sensible, SDD: sensible dependiente de dosis, R: resistente, I: sensibilidad intermedia.

I.2.2 Patogenia de la candidemia

La especie *candida* se puede encontrar en las mucosas gastrointestinales, respiratorias y/o urinarias actuando como comensal del ser humano o lo que es lo mismo, colonizando al ser humano. El paso de colonización a invasión viene marcado por los diferentes factores de virulencia que presente la levadura y de la respuesta innata que desarrolle el huésped (68, 69)

A la hora de infectar al ser humano, la primera barrea defensiva que tienen que atravesar es la mucosa epitelial. En el caso de la boca, el huésped presenta proteínas como lactoferrina, mucinas, lisozimas e inmunoglobulina A, que dificultan la adhesión del hongo (4). En el caso de la vagina, el pH alcalino y las secreciones vaginales ricas en glucógeno mantienen el epitelio trófico y la flora bacteriana vaginal (*lactobacillus*) que impide la colonización por otras especies (70). A nivel intestinal ciertas glicoproteínas mucinosas, péptidos antimicrobianos y la existencia de inmunoglobulina A impiden la invasión por *cándida* (71). Por ello, antibioterapia o fármacos que afecten a la flora comensal de la cavidad bucal, de la vagina o cualquier patología que aumente la permeabilidad intestinal pueden predisponer a candidiasis invasiva.

A su vez, esta especie de hongos poseen diferentes armas de invasión, entre ellas está su estructura celular la cual le da estabilidad y por otra parte es diana de algunos de los antifúngicos actuales (4, 39, 72)(Fig.5).

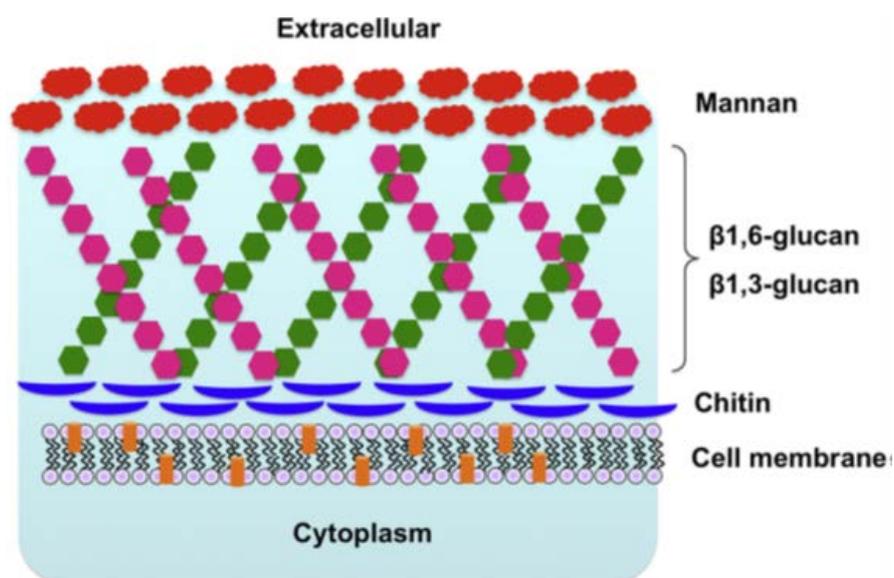


Figura 5. Esquema de las capas celulares de *candida albicans* (4)

La especie fúngica posee adhesinas para facilitar su unión a los epitelios y proteinasas aspárticas secretadas (PAS) que son importantes para la destrucción de las mucosas humanas (29). Existen diversos genes que codifican para las diferentes PAS, expresándose unos u otros dependiendo de la temperatura (37°C óptima) y el pH del medio (73).

Una vez adherida la *candida*, las células epiteliales responden secretando interleucinas como IL-8 para así estimular el crecimiento de granulocitos y linfocitos, los cuales secretan IL-17 IL-21 y IL-22 facilitando el reclutamiento de neutrófilos y dificultando la invasión del epitelio (29, 73). Franqueada la primera barrera mucosa, comienza la infección por *candida* y con ella la respuesta de la inmunidad innata del huésped. La activación de neutrófilos y monocitos será un paso fundamental ya que ellos serán los encargados de llevar a cabo la fagocitosis, provocando la muerte del hongo, impidiendo su extensión y dificultando su dismorfismo. El tamaño y la forma de estas especies fúngicas podrán dificultar este trabajo y actuar como arma defensiva contra el huésped (Fig 6)(72, 74).

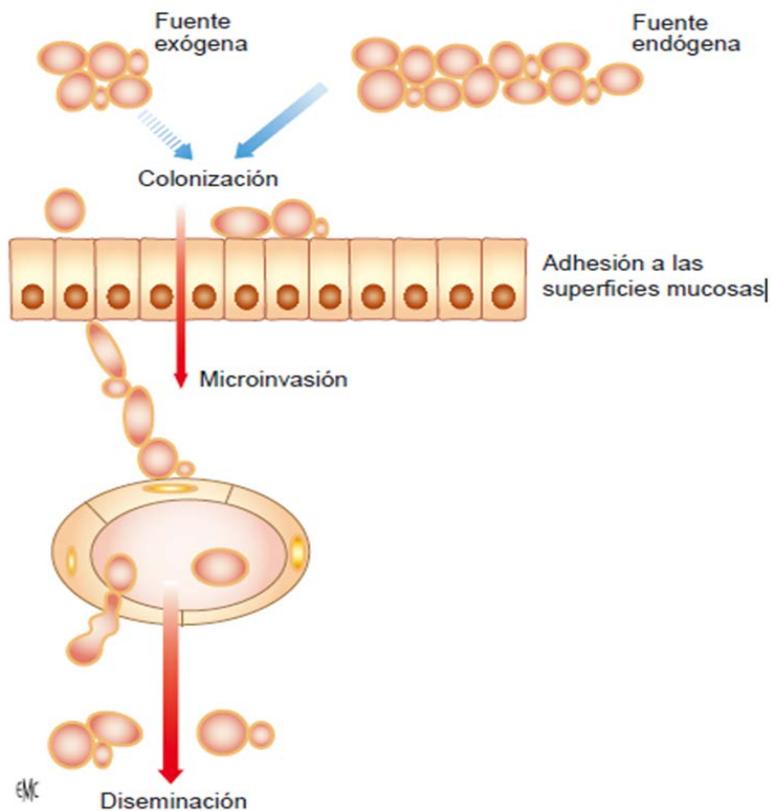


Figura 6. Esquema de las diferentes barreras que atraviesa *candida spp* hasta llegar al torrente sanguíneo y causar candidemia

Para que la fagocitosis se pueda producir, es necesario que nuestros fagocitos (neutrófilos, monocitos y células dendríticas) reconozcan al hongo, y esto se produce gracias a los receptores reconocedores de patrones (RRP), que como su nombre indica, reconocen patrones moleculares constantes asociados a patógenos (PAMP) Estos patrones se caracterizan por ser específicos de microorganismos invasores, invariables entre especies y por no encontrarse en las células del huésped (71, 75). Su reconocimiento lleva a la activación de la inmunidad innata (opsonización y fagocitosis) y posteriormente de la adquirida. Los RRP más importantes en la infección por *candida* son los “*Toll like receptor*” (TLR), los receptores de manosa y de dectina-1. Los TLR son receptores proteicos que se encuentran atravesando la membrana y presentan dos dominios, uno extracelular y otro intracelular. El dominio que se halla en la parte extracelular es el que se une al patógeno y el que reconoce PAMP, y éste transmite la señal al dominio intracelular que iniciará la cascada de respuesta inmunitaria. El dominio intracelular interacciona con diferentes proteínas como “*MyD88*”, activando la transcripción de los genes responsables de la producción de citoquinas proinflamatorias y antiinflamatorias (76, 77) Como consecuencia de todos los anteriores procesos se activará la inmunidad adaptativa

Los RRP más importantes en la infección fúngica por *candida* son (76) (Fig. 7 y 8):

- ✚ TLR2 reconoce los fosfolipomananos del hongo y a través de MyD88 inicia la respuesta **Th2** mediante la secreción de IL-12 IL-1 IL-6 IL-8 TNF (citoquinas proinflamatorias).
- ✚ TLR4 reconoce al componente manano del hongo y a través de MyD88 y otras proteínas intracelulares como MAL, inicia la respuesta **Th1** mediante la secreción de IL-12 IL-1 IL-6 IL-8 TNF (citoquinas proinflamatorias).
- ✚ TLR9 reconoce ADN del hongo. Su acción parece ser eclipsada por otros RRP.
- ✚ Dectina-1: se une a los beta-glucanos (β 1-3 glucanos) y favorece la maduración de las células dendríticas y macrófagos. A través de la proteína quinasa CARD9 y las citoquinas IL-2, IL-10, IL-6, IL-7 activan la respuesta **Th17**.
- ✚ Dectina-2: se una a α -mananos y a través de IL-1, IL-6 y IL-8 activa la respuesta Th17.

- ✚ Galectin-3: se une a moléculas que contienen β 1-galactosa y amplifica la respuesta de los TLR2.

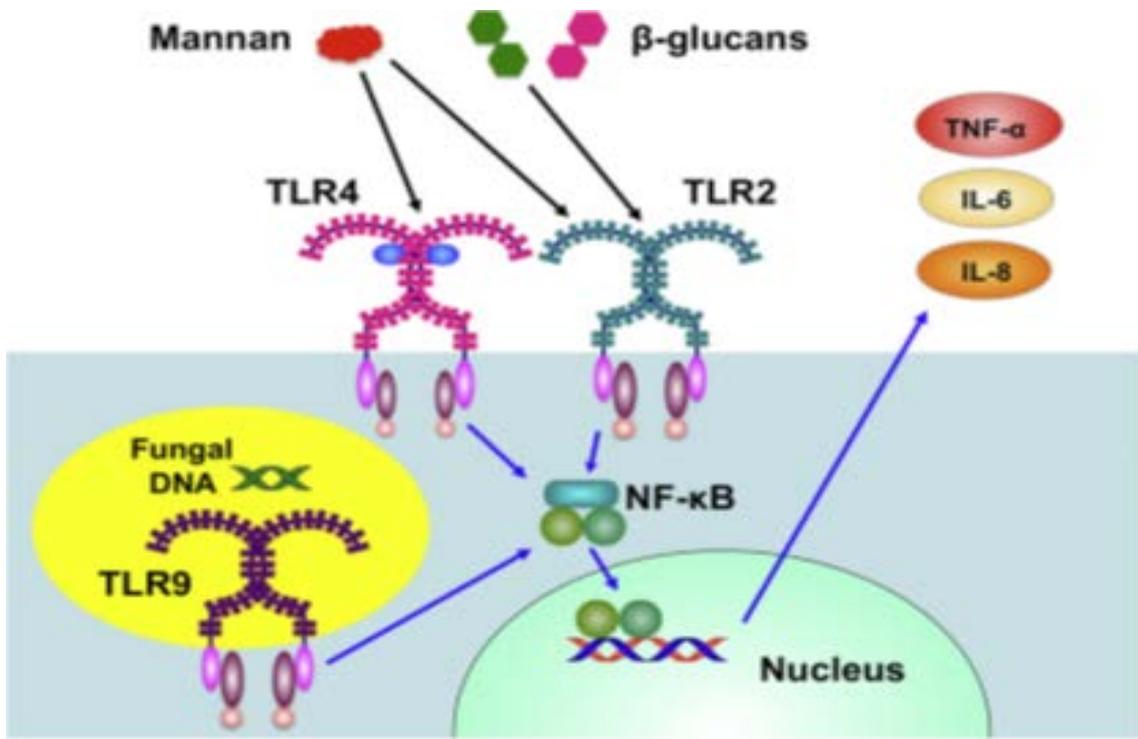


Figura 7. TLR implicados en el reconocimiento de especies *candida*

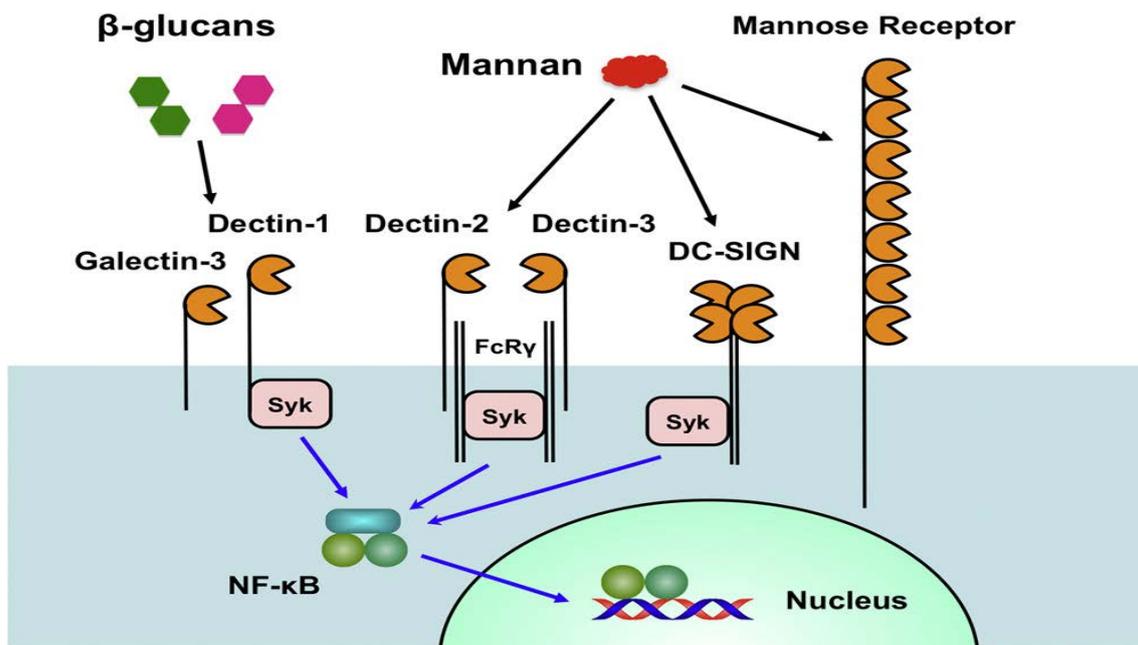


Figura 8. RRP Dectinas implicadas en el reconocimiento de especies *candida*

Una vez reconocido y fagocitado el hongo, las células presentadoras de antígeno, fundamentalmente las células dendríticas, exponen el antígeno del patógeno mediante el Complejo Mayor de Histocompatibilidad (MHC). Si éste es MHC tipo 1, los linfocitos CD8⁺ se activarán y facilitarán la diferenciación de linfocitos CD4⁺ generando células Th1 o Th2. Si el MHC es tipo 2, será reconocido directamente por los receptores de los linfocitos CD4⁺ comenzando así con las respuestas Th1 y Th2 (76). Hay cuatro tipos de respuestas Th (Th1, Th2, Th17 y Treg), el desarrollo de una u otra dependerá de las citoquinas segregadas por las células presentadoras de antígenos (CPA) y que van a provocar la diferenciación de los linfocitos CD4⁺ “naive” a otros linfocitos definitivos. Las citoquinas que promueven una respuesta Th, inhiben otra potenciando de esta manera una sola respuesta al mismo tiempo. Este hecho es llamado “polarización” de la diferenciación de linfocitos Th (75).

Como las especies *candida* crecen en diferentes morfologías (células únicas, pseudohifas o formas filamentosas) siendo la transición de unas a otras reversible, si la CPA reconoce mediante sus RRP a la especie en forma de levadura (unicelular), producirá IL-12, induciendo una respuesta Th1. Los linfocitos Th1 producirán entonces IFN- γ , aumentando la expresión de receptores de IL-12, que a su vez potenciarán respuesta Th1. Si la CPA reconoce a la especie *candida* en forma de pseudohifas, producirá IL-4 y se inducirá la respuesta Th2. Cuando la CPA segrega IL-1, IL-23, IL-6 y TNF los linfocitos CD4⁺ “naive” se diferenciarán en linfocitos Th17. Éstos producirán IL-17 y IL-22 las cuales juegan un papel importante en la activación de neutrófilos y en la defensa de las mucosas corporales (excepto la mucosa vaginal). La importancia de la respuesta Th17 viene demostrada en un ensayo con ratones en el que aquellos ratones que no podían producir IL-23 o IL-17 presentaban mayor susceptibilidad a sufrir candidiasis invasiva (6, 56).

En resumen, podemos decir que la morfología de la especie *candida* puede influir en la respuesta innata y adaptativa del huésped, de tal manera que si se presenta en forma de levadura se desarrollará respuesta adaptativa Th1 y Th17 que se asocian con protección frente a candidemia. Sin embargo, si se presenta como pseudohifas se producirá la diferenciación de los linfocitos CD4⁺ “naive” a linfocitos Th2, la cual asocia a permanencia de la infección fúngica (75). (Fig. 9 y 10)

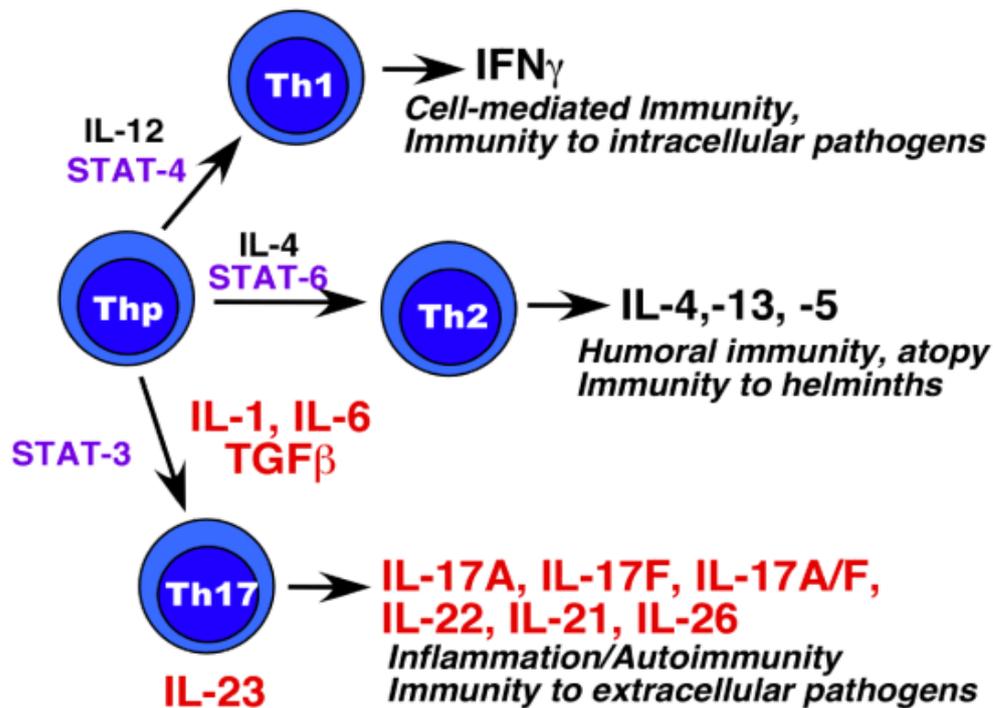


Figura 9. Diagrama de las diferenciaciones de linfocito CD4+ dependiendo de las diferentes citoquinas, Gaffen *et al.* (6)

La respuesta humoral a la infección por *candida* en humanos juega un papel de menor importancia que la respuesta celular. Clínicamente, una disminución de los linfocitos B no se asocia con un aumento de susceptibilidad a la infección. Sin embargo, en estudios realizados con ratones con inmunodeficiencia combinada en los que se inyectaron vacunas con manano de *candida albicans*, se observó una menor predisposición a la infección y una mayor supervivencia, aunque esto todavía no se ha evidenciado en humanos (78-80).

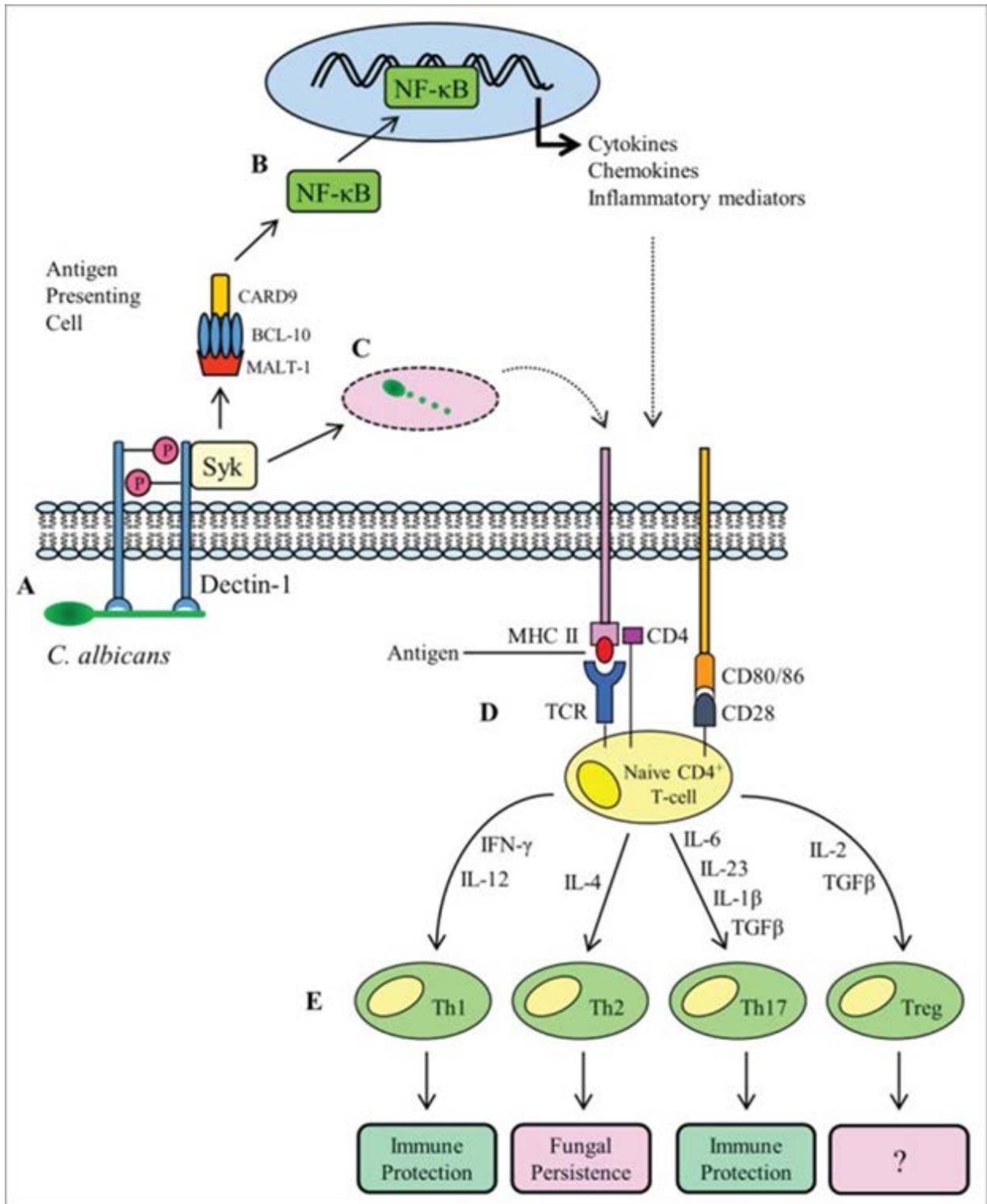


Figura 10. Esquema de los diferentes pasos de la respuesta innata y adaptativa contra la invasión de especie *Candida*

I.2.4 Candidemia y Sepsis

I.2.4.1 Definición de sepsis y shock séptico

Desde el año 2016, en el tercer consenso internacional de definición de sepsis y shock séptico, se describió sepsis como una disfunción orgánica potencialmente mortal causada por una respuesta desregulada del huésped a la infección (81). Para valorar la afectación de los diferentes órganos, se recomendó la escala SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*, por sus siglas en inglés). Partiendo de que el paciente sano sin afectación orgánica preexistente tiene un valor de SOFA 0, se designará pacientes con sepsis aquéllos que presenten infección y con un valor de SOFA mayor o igual a 2 (81, 82) (Tabla 4).

Tabla 4. Escala de valoración de afectación orgánica. SOFA (81, 82).

SISTEMA	0	1	2	3	4
RESPIRATORIO PaO ₂ /FiO ₂ SatO ₂ /FiO ₂	>400	<400 221-300	<300 142-220	<200 67-141	<100 <67
NEUROLÓGICO Glasgow	15	14-13	12-10	9-6	<6
COAGULACIÓN Plaquetas (10 ³ /mm ³)	>150	<150	<100	<50	<20
HÍGADO Bilirrubina (mg/dl)	<1,2	1,2-1,9	2-5,9	6-1,9	>12
RENAL Creatinina (mg/dl)	<1,2	1,2-1,9	2-3,4	3,5-4,9	>5
CARDIOVASCULAR PAM (mmHg)	>70	<70	Dopa a <5 o DBT a cualquier dosis.	Dopa 5,1-15 NA ≤ 0,1	Dopa >15 NA >0,1

Abreviaturas: PaO₂ presión arterial de oxígeno, FiO₂ fracción inspirada de oxígeno, Sat O₂ saturación arterial de oxígeno, PAM presión arterial media, Dopa dopamina, NA noradrenalina Las dosis de los fármacos se expresan en mcg/kg/min.

Tabla 5. Criterios de *Quick* SOFA(81, 82).

<i>Quick</i> SOFA (q SOFA)
Frecuencia respiratoria ≥ 22 Respiraciones/minuto
Alteración del sensorio
Presión arterial sistólica ≤ 100 mmHg

Otro concepto que se describió en el consenso SEPSIS-3, fue el de *Quick*-SOFA. Es una herramienta clínica que creó para determinar un cuadro de sepsis o shock séptico en los servicios de urgencias sin necesidad de tener valores de laboratorio (Tabla 5).

Shock se define como un estado de sepsis en el que la disfunción del metabolismo celular y circulatorio instaurada es muy grave pudiendo provocar la muerte de manera inminente. (81). Los criterios utilizados para su diagnóstico son hipotensión (PAM <65 mmHg) persistente a pesar de una reposición hídrica adecuada, que precisa de vasopresores y valores de lactato sérico mayores de 2 mmol/L (81).

I.2.4.2. Epidemiología de la sepsis y el shock séptico

En los Estados Unidos, la incidencia de sepsis se estima en 300 casos por cada 100.000 habitantes y aproximadamente la mitad de estos casos ocurren fuera de la UCI. Una cuarta parte de los pacientes que desarrollan sepsis morirán durante su hospitalización. Si nos encontramos con un caso de shock séptico la tasa de mortalidad puede ascender al 50% (83, 84). En España la incidencia de sepsis es de 104 casos por 100.000 habitantes y la incidencia de shock séptico es de 31 casos por 100.000. Los casos de sepsis y shock séptico suponen 1 de cada 5 ingresos en unidades de cuidados intensivos y es una de las causas principales de mortalidad en las UCI no cardíacas en España llegando al 47% (85, 86).

Los microorganismos que pueden desencadenar un cuadro séptico o de shock séptico son diversos, habiéndose descrito que la especie *candida* es responsable de hasta el 19% de los cuadros sépticos (36, 87) y del 5% de los shock sépticos (14, 28, 88).

I.2.4.3 Respuesta inmunitaria durante la sepsis

A pesar de las mejoras en el diagnóstico y tratamiento precoz, gracias a las recomendaciones realizadas por la campaña “Sobreviviendo a la Sepsis”, la mortalidad del cuadro séptico sigue siendo elevada, del 29% al 38%, con cifras aún mayores en caso de los pacientes de UCI (82, 89-91).-el estado inmunitario de los pacientes va a determinar un mayor o menor riesgo de desarrollar infecciones. Así los pacientes afectados por el virus VIH (virus de inmunodeficiencia humana), con disminución de la población de linfocitos, presentan más infecciones y desarrollan cuadros sépticos de mayor gravedad (92-94).

La sepsis en general se relaciona con cierto estado de inmunodepresión , que, entre otras cosas, facilita la adquisición de nuevas infecciones (95), que en el caso de las UCI son con frecuencia provocadas por gérmenes multiresistentes o resistentes a los tratamientos habituales como son las especies *candida* no respondedoras al tratamiento con azoles (59, 60).

Durante la infección se produce una respuesta inflamatoria que es la resultante de un balance entre respuesta proinflamatoria y antiinflamatoria. Todo el proceso comienza con el conocimiento de los PAMP de los patógenos por parte de los TLR de las células presentadores de antígeno como son los neutrófilos, monocitos y células dendríticas con la posterior cascada de interleucinas y citoquinas y finalmente la activación de linfocitos (CD8+y CD4+), complemento y cascada de coagulación.

En sepsis la activación de la respuesta inmunitaria, debido a la liberación masiva de PAMP, hace que se inicien circuitos de retroalimentación positiva para incrementar la expresión de los receptores de reconocimiento de patógenos (RRP) llevando finalmente a una liberación masiva de citoquinas y a una respuesta inflamatoria exagerada y perjudicial (96). Dentro de la liberación de citoquinas, se liberan proinflamatorias, pero también antiinflamatorias como IL-10 e IL-4 que desarrollan la respuesta Th2 y proliferan los linfocitos T reguladores (Treg) y provocando así una inmunosupresión(27, 28) (Fig. 11) .

Otro hecho que se describe es un estado de apoptosis de las células tanto presentadoras de antígeno como de los linfocitos CD4+(97). Esta apoptosis se explica por la liberación de especies reactivas de oxígeno (ROS) en la tormenta inflamatoria y también a la

expresión linfocitos de la proteína PD-1. La activación de PD-1 causa inhibición de las funciones del linfocito incluyendo la producción de citoquinas y su actividad citotóxica (5, 27, 98). En un estudio realizado por Zhang *et al.* con animales, el bloqueo con anticuerpos contra PD-1 mejoraba la supervivencia y la clínica de éstos (99). Spect *et al.* en un estudio observacional prospectivo del año 2013 al 2015 en Washington, valoró las células linfocitarias en pacientes que sufrían sepsis por candidemia, observando que los linfocitos de los pacientes con sepsis por candidemia poseían un fenotipo de supresión (98). Los linfocitos CD4+ Y CD8+ presentaban una expresión excesiva y anómala de proteína PD-1 y una disminución de los receptores de IL-7 (98).

La IL-7 es una interleucina cuyo papel ha sido estudiado por diferentes grupos en las sepsis por candidemia, especialmente por *C. albicans*. Es una citoquina producida por la médula ósea y células del timo que es necesaria para la supervivencia de los linfocitos T. IL-7 induce la proliferación de los CD4+ “naive” a linfocitos diferenciados e incrementa la producción de otras citoquinas como IFN γ y la cual facilita la acción fagocítica y mejora la capacidad inmunitaria contra la fungemia. A diferencia de otras citoquinas, IL-7 no provoca la liberación descontrolada del resto de citoquinas lo que acota la inflamatoria(30, 93, 100). Unsinger *et al.* realizó en 2011 en la Universidad de Washington un estudio de casos y controles con ratones con candidemia a los que se les administraba IL-7 o suero salino. Se observó que los ratones a los que se les había administrado IL-7 presentaron un incremento de linfocitos y de sus funciones y mayor supervivencia que los controles(30).

Diversos estudios han determinado la linfopenia como factor pronóstico de la sepsis (27, 28, 101), presentando una mortalidad mayor aquellos pacientes con linfopenias persistentes (101-104). Adrie *et al.* en un estudio retrospectivo en el que colaboraron diferentes unidades de cuidados intensivos, observaron que aquellos pacientes que al tercer día de sufrir shock séptico continuaban con linfopenia presentaban mayor riesgo de adquirir más infecciones y aumento de mortalidad a los 28 días (28). A su vez, nuestro grupo de investigación, en un trabajo publicado en España en 2014 describimos que una disminución de neutrófilos por debajo de $7.226 \text{ células/mm}^3$ era factor de mal pronóstico en los pacientes que sufrían shock séptico (105).

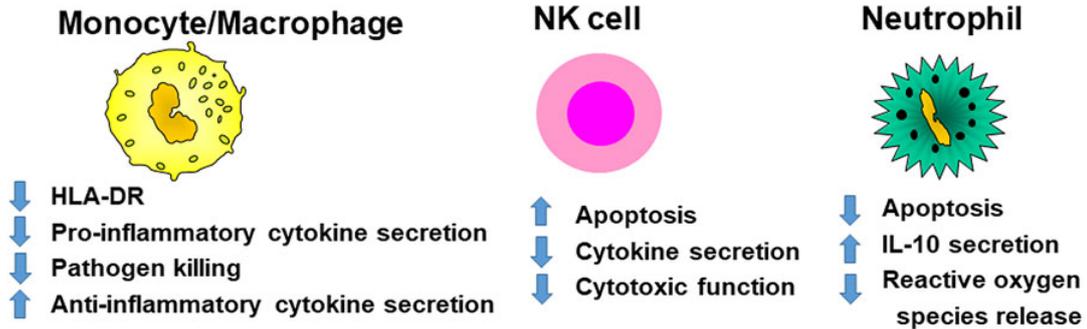
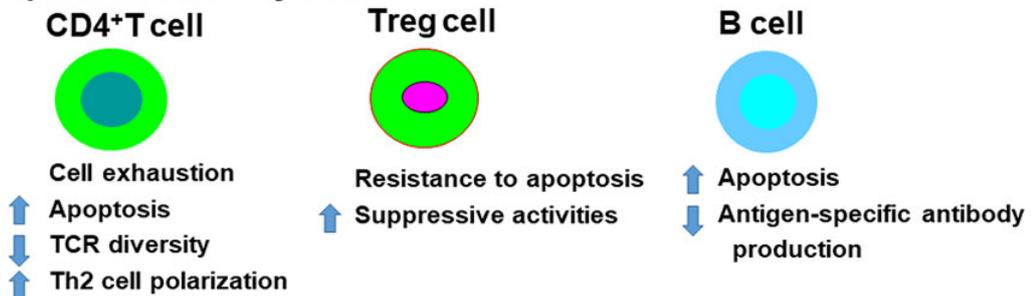
(A) Innate Immunity**(B) Adaptive Immune system**

Figura 11. Esquema de la afectación de la inmunidad innata y adaptativa en sepsis (5)

1.2.5 Diagnóstico de candidemia

Un diagnóstico y tratamiento precoz de la candidemia, es fundamental para disminuir la mortalidad asociada y la estancia hospitalaria de los pacientes la padecen (40, 106-109). En la actualidad esta infección es diagnosticada por métodos clínicos que se recogen en escalas para iniciar un tratamiento empírico precoz, pero las diferentes escalas de riesgo tienen un valor predictivo positivo no mayor del 20% (110, 111). El diagnóstico definitivo de la candidiasis invasiva es fundamental para realizar un tratamiento dirigido, que ha demostrado disminuir la morbimortalidad y costes sanitarios, frente al tratamiento empírico (24) y para ello es necesario determinar la presencia de la especie *candida* en una muestra de sangre del paciente (112).

Existen diversos métodos diagnósticos, que se pueden agrupar en convencionales (cultivo) y alternativos.

I.2.5.1 Métodos Convencionales: el cultivo de la especie *candida*

El diagnóstico microbiológico habitual que se lleva a cabo en la mayoría de los centros hospitalarios es el cultivo del hongo, donde se aísla y se identifica. Para ello es muy importante la muestra que vamos a estudiar y su manipulación.

Las muestras

Las muestras deben recogerse mediante métodos de asepsia para evitar su contaminación, con aspiración de jeringa o biopsia y en cantidad adecuada ya que el estudio de los hongos requiere de más concentración de muestra para su identificación. Deben ser transportadas lo más rápido posible al laboratorio no superando las dos horas, ya que la temperatura elevada ($> 37^{\circ}\text{C}$) o excesivamente baja ($< 4^{\circ}\text{C}$), las citoquinas liberadas por los leucocitos de la muestra y la ausencia de nutrientes, provoca un aumento de la mortalidad de la *candida* en la muestra. En caso de que un centro no tenga laboratorio microbiológico y necesite transportar las muestras a una distancia de más de dos horas, deberá realizar el traslado a una temperatura de aproximadamente 4°C excepto las muestras estériles como sangre o LCR que se conservan a temperatura ambiente (113, 114).

Las muestras de referencia para diagnosticar candidemia son los hemocultivos. Éstos deben recogerse una vez al día mientras se sospeche que existe infección fúngica. La cantidad debe ser de 20ml por extracción y deben realizarse tres venopunciones a lo largo de unos 30 minutos, extrayendo sangre de diferentes lugares e introduciéndola en frascos de aerobios y anaerobios. Las muestras deben incubarse al menos 5 días (110, 115). En niños o en pacientes con anemia severa se pueden obtener muestras de menor volumen para no causar anemia nosocomial (116).

Marcación de las especies fúngicas

La identificación definitiva del hongo debe basarse en la observación de la morfología microscópica, ya que a veces se consiguen ver elementos característicos de los diferentes tipos de hongos. El examen directo de la muestra se basa en la tinción con fluorocromos que se unen a la pared del hongo de manera inespecífica como las tinciones de Gram (117, 118), argénticas, tinciones con calco flúor, tinta china o del ácido periódico de Schiff. Las formas de *candida* filamentosas presentan más dificultad para la tinción de Gram.

Las técnicas que emplean anticuerpos marcados para su identificación pueden mejorar la sensibilidad del estudio aunque estos métodos no están disponibles de manera rutinarias (113).

✚ Medios de cultivo

Los hongos no son exigentes a la hora de crecer en uno u otro tipo de medio de cultivo. La mayoría de los medios son selectivos y constan del agar glucosado de Sabouraud más antibióticos como cloranfenicol que no dejen crecer poblaciones de bacterias. A veces es necesario utilizar medios de cultivo con mayor grado de selección para así diferenciar y facilitar el crecimiento de un tipo u otro de hongo y así ayudar a un diagnóstico más certero. Cuando la muestra que tenemos es sangre, las técnicas clásicas con cultivos bifásicos se han ido sustituyendo por técnicas de lisis-centrifugación y lisis-filtración (113, 119). Los cultivos deben mantenerse durante al menos 4-6 semanas que es el tiempo que puede necesitar una población de hongos en crecer y diferenciarse. Con los nuevos métodos automatizados se ha aumentado la sensibilidad y disminuido el tiempo de latencia del diagnóstico. Así, el crecimiento de *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. parapsilosis* suele ser de 3 días, el tiempo de incubación de *C. tropicalis* y *C. krusei* es de 3-4 días y *C. glabrata* necesita más de 4 días para ser crecer y ser diagnosticada. Aunque hay un nuevo método molecular que puede diagnosticar esta especie *Candida* en 20 minutos(2) (Fig 12).

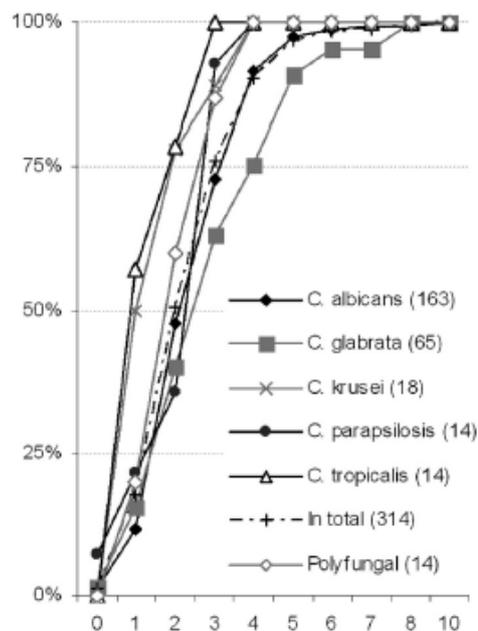


Figura 12. Días de crecimiento y de positividad del hemocultivo para las diferentes especies *Candida* (2)

✚ La identificación de las especies fúngicas

La interpretación de los medios de cultivo dependerá del tipo de muestra que obtengamos. Así, la detección de *candida* en cualquier biopsia de tejido estéril o de LCR tendrá significación diagnóstica. Sin embargo, las muestras respiratorias son difíciles de interpretar ya que la especie *candida* está presente en el 20% de las personas sanas y en el 50% que hayan tenido antibioterapia previa(120).

Una vez que tenemos los medios de cultivo y la tinción, los hongos deben ser identificados siguiendo diferentes criterios: morfológicos, bioquímicos, inmunológicos o genéticos (121).

- Criterios morfológicos: los macroscópicos diferencian la forma en que las colonias de hongos se organizan en los diferentes medios de cultivo y los criterios microscópicos son utilizados para distinguir específicamente algunas especies de levaduras.
- Criterios bioquímicos: se basan en destacar actividades enzimáticas al hidrolizarse un sustrato cromógeno con enzimas del hongo. Los más utilizados son: CHROMagar Candida® (Becton Dickinson GmbH, Alemania), Candida CHROMID® (Biomerieux, Lyon, Francia), CandiSelec® (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, Francia) agar SDCA-MUAG® (Biolife, Milan, Italia) Y Agar Fluoroplate Candida (Merck, Darmstadt, Alemania) Los utilizados con *candida albicans* destacan la actividad de las enzimas β -galactosidasa y L-prolina aminopeptidasa (122). Hay otro método bioquímico que consiste en el aprovechamiento por parte de la levadura de moléculas de carbono o nitrógeno. De éstos hay diferentes en el mercado, los más rápidos son RapID Yeast Plus System® (Oxoid, Kansas, EEUU), y la técnica de GLABRATA RTT® (Fumouze Diagnostics, Levallois Perret, Francia) que diagnostica la presencia de Candida Glabrata en 20 minutos (113).
- Criterios inmunológicos-genéticos: consisten en la utilización de anticuerpos monoclonales específicos para antígenos de *c.albicans* o *c.krusei* (123).

Para focalizar los pasos más importantes en el diagnóstico convencional de candidemia Ayats *et al.* indicaron las recomendaciones de diagnósticos de las infecciones fúngicas (SEIMC) para métodos convencionales, las cuales se recogen en la tabla 6.

Tabla 6. Recomendaciones de Ayats *et al.* para el diagnóstico de infecciones fúngicas con métodos convencionales(113).

RECOMENDACIONES
Toma de muestras adecuada siguiendo procedimientos habituales
Remisión al laboratorio en < 2horas. Si no es posible conservar a 4°C
Realizar siempre un examen microscópico, microbiológico e histopatológico
Cultivar en varios medios de cultivo, incluyendo medios selectivos
Los medios de cultivo diferenciales son útiles para algunas especies como <i>candida</i>
Deben identificarse la especie de todas las cepas clínicas causantes de la infección
Los criterios morfológicos y bioquímicos identifican la mayor parte de las cepas
La identificación molecular de las cepas clínicas debe utilizarse en casos seleccionados y realizarse en centros de referencia

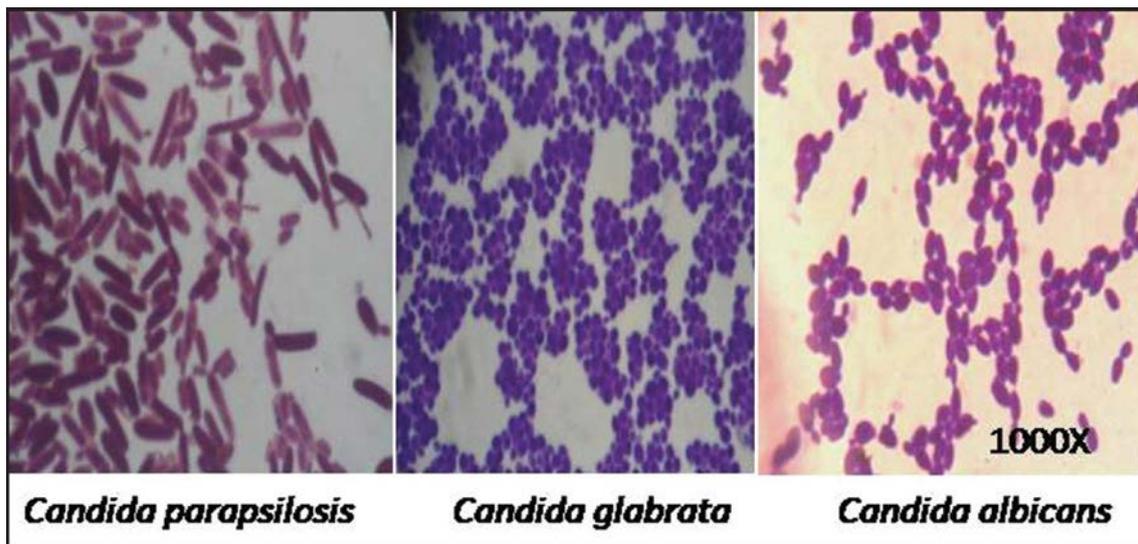


Figura 13. Cultivo de diferentes Especies *candida* (7).



Figura 14. Cultivo de *candida* en medio de cultivo agar glucosado de Sabouraud. Imagen cedida por el servicio de microbiología del Hospital de Medina del Campo.

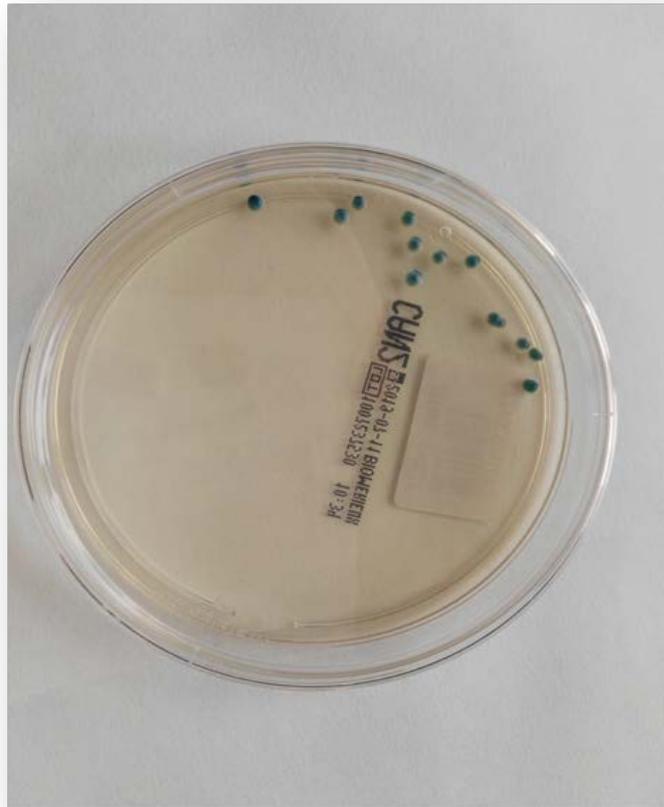


Figura 16. Cultivo de *Candida* con tinción cromogénica. Imagen cedida por el servicio de microbiología del Hospital de Medina del Campo



Figura 15. *Candida albicans* en placa cromogénica. Imagen cedida por el servicio de microbiología del Hospital de Medina del Campo.

Los hemoemocultivos presentan una sensibilidad del 50% y necesitan de mucho tiempo de incubación para diagnosticar positividad en la infección fúngica, por ello se han desarrollado métodos alternativos al cultivo tradicional (110, 115).

I.2.5.2. Métodos Alternativos al cultivo de especie *candida*

Debido a la necesidad de un diagnóstico precoz de candidemia, ya que un tratamiento no adecuado y tardío se asocia con un incremento de la mortalidad, han surgido nuevas técnicas diagnósticas, más rápidas que hacen evidente la presencia de *candida* en pocas horas. Éstas se basan en la detección de ácidos nucleicos, de beta-D-glucano, de manano y anticuerpo anti-manano y de anticuerpos anti-micelo.

✚ Detección de ácidos nucleicos

Dentro de estas técnicas destaca la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) que consiste en amplificar diferentes zonas del material genético (ADN) del hongo. La sensibilidad y especificidad de este método diagnóstico es de 92% y 95% (124). Lau A *et al.* en 2011 obtuvo una mayor sensibilidad de la técnica PCR frente al hemocultivo tradicional en el diagnóstico de 4.700 pacientes con candidemia (125). El tiempo que necesita esta técnica para el diagnóstico está descrito en algunos trabajos como McMullan *et al.* que estudió 157 pacientes con candidemia utilizando PCR y obtuvo el diagnóstico en 6 horas (Fig.17) (126).

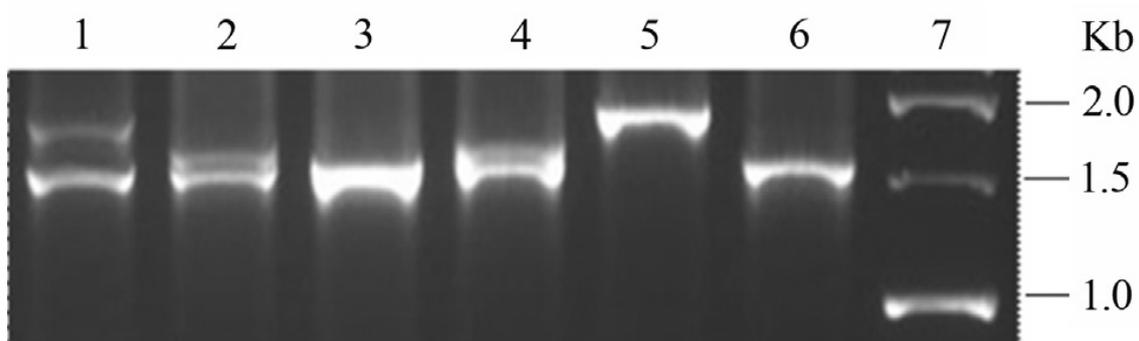


Figura 17. Amplificación de la región ASL3 del ADN de *Candida albicans* (PCR)(1)

✚ Detección de beta-D-glucano

El beta-D-glucano es un componente de la pared fúngica, no específico de la especie *Candida*, que actúa como antígeno desencadenando la respuesta inmunitaria a la infección por hongos. Este método diagnóstico presenta una sensibilidad y especificidad en la detección de beta-D-glucano mayor del 70% y 80% respectivamente. En el caso concreto de la candidemia la sensibilidad puede ser superior al 80% y lo más importante, su valor predictivo negativo es mayor del 90% cuando se hacen determinaciones seriadas adelantando en 7 días la detección por hemocultivos (110, 113, 127). Otra ventaja de esta técnica es que el tratamiento con antifúngicos no interfiere en su eficacia diagnóstica (113).

El método más utilizado para detectar beta-D-glucano es el de Fungitell, su funcionamiento es explicado en la figura 17. Durante el crecimiento celular, la BG se libera en forma soluble, principalmente como triples hélices. El ensayo de Fungitell comienza con el tratamiento previo de las hélices triples para formar monómeros. El BG monomérico se une a un zimógeno serina proteasa llamado factor G. El factor G activado luego activa una enzima de coagulación, que convierte un reactivo incoloro en un compuesto amarillo, que se puede medir con espectrofotometría para obtener una medición indirecta de los niveles de BG. (128).

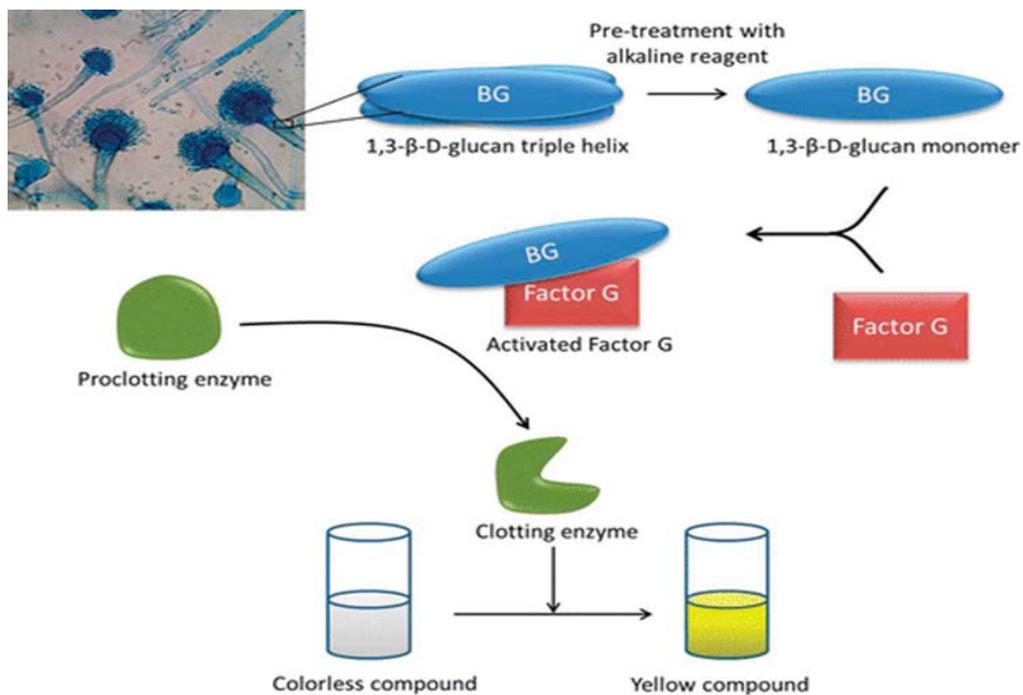


Figura 18. Método diagnóstico de Fungitell:

✚ Detección de manano y de anticuerpo anti-manano

Se realiza mediante técnica ELISA, acrónimo del inglés “*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay*”, ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas. Es una técnica de inmunoensayo, no específica de la especie fúngica *candida*, en la cual un antígeno, en este caso manano, se detecta mediante un anticuerpo, anti-manano, enlazado a una enzima capaz de generar un producto detectable, como cambio de color o algún otro tipo (Fig. 18). Su sensibilidad es del 80%, su especificidad 85% y tiene un valor predictivo negativo del 85%. Se recomienda realizar una seriación dos veces a la semana y así sólo administrar tratamiento antifúngico a quienes realmente esté indicado (129).

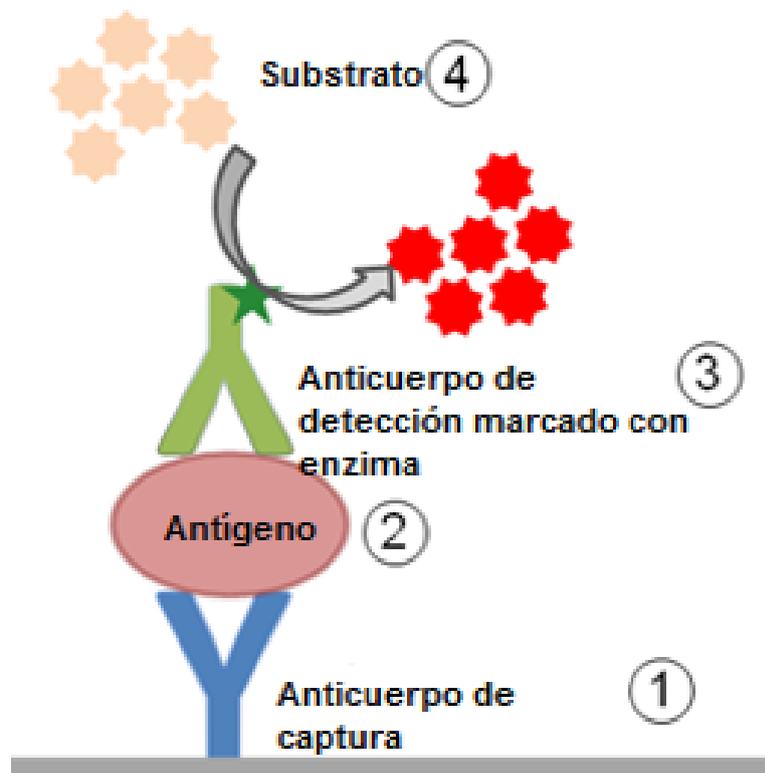


Figura 19. Técnica ELISA para el diagnóstico de candidemia. (3)Traducción: Jesús Gil, Würzburg, DE (SEI).

✚ Detección de anticuerpos anti-micelio o anti tubos germinales.

Consiste en la cuantificación de anticuerpos contra antígenos *candida albicans* en suero. Pese a su nombre, esta técnica también es capaz de diagnosticar candidemia provocada por otras especies *candida.*, todas ellas cuando se encuentran en fase micelial. Presenta una sensibilidad de 84.4% y especificidad de 94.7% (130). Este método ha sido desarrollado en España y comercializado como Candida albicans IFA IgG® (Vircell, Granada, España).

Ayats *et al.* establecieron un grado de recomendación y nivel de evidencia para cada técnica diagnóstica, en ocasiones atendiendo a diversas situaciones clínicas (tabla 7)(113).

Tabla 7. Recomendaciones y grados de evidencia de las técnicas alternativas al cultivo para el diagnóstico de candidemia

TÉCNICA DIAGNÓSTICA	GRADO DE RECOMENDACIÓN
Detección galactomanano en suero o lavado broncoalveolar en pacientes oncohematológicos	A-I
Detección galactomanano en suero, LCR, o lavado broncoalveolar en otros pacientes	B-II
Detección de (1-3)-beta-D- glucano	A-I
Detección de ácidos nucleicos	B-II

I.2.6 Tratamiento de la candidemia

La morbimortalidad de la candidemia, es muy elevada, pudiendo llegar a tener una tasa de mortalidad mayor de 40% en pacientes en UCI. Un retraso en el inicio del tratamiento se ha relacionado con un incremento de la mortalidad a los 30 y 90 días del diagnóstico (17, 42, 53, 107, 131, 132). Un diagnóstico precoz resulta difícil dado que las técnicas diagnósticas que existen en la mayoría de los hospitales requieren tiempo y su valor predictivo positivo es bajo. La Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas (IDSA) en EEUU y La Sociedad Europea de Microbiología Clínica y Enfermedades Infecciosas (ESCMID), han desarrollado protocolos de tratamiento basándose en factores de riesgo de presentar infección fúngica y candidemia (133), y se han creado escalas para orientar así sobre la necesidad de comenzar con un tratamiento de forma empírica hasta obtener el diagnóstico definitivo.

I.2.6.1 Factores de riesgo de candidemia

Son numerosos los trabajos que han estudiado distintas variables como factores de riesgo de candidemia, y se han hecho diversas revisiones bibliográficas que resumen los factores de riesgo intrínsecos, aquéllos que presentaba ya el paciente antes del ingreso, y extrínsecos, aquéllos asociados a la atención sanitaria.

- ✚ Factores intrínsecos: edad mayor de 65 años (134), diabetes mellitus (135, 136), insuficiencia renal crónica, neoplasias no hematológicas y hematológicas (134), enfermedades digestivas como pancreatitis aguda (137) o perforación gastrointestinal, patología cardíaca subyacente, politraumatismos graves y grandes quemados (19, 20, 138). La escala APACHE II, que es un sistema de clasificación del estado de gravedad y pronóstico de pacientes ingresados en UVI que también se ha estudiado para determinar el factor de riesgo de padecer candidemia sin obtener una clara evidencia estadística (tabla 8) (136, 139, 140).

- ✚ Factores extrínsecos o asociados a la atención sanitaria: cirugía previa y especialmente abdominal urgente (13, 134, 141, 142), nutrición parenteral (19, 20, 136, 137, 141, 143), terapia de sustitución renal (136, 141, 144), sepsis (20, 135, 144), ventilación mecánica más de 48 horas (135, 145), antibioterapia previa (13, 134), catéter de vía venosa central (134, 145), colonización múltiple con *candida* (20, 138) y hospitalización prolongada.

Muskett *et al.*, realizó una revisión que incluyó 13 trabajos basados casi todos ellos en un estudio observacional prospectivo de cohortes de 1655 pacientes mayores de 18 años y que ingresaron en UCI españolas (EPCAN) (19). Resumió en una tabla todas las variables tomadas como factores de riesgo de candidemia y los trabajos donde se citaron (146) (Tabla 9).

Tabla 9. Factores extrínsecos de riesgo para candidemia. Adaptación de Muskett *et al.*(146)

FACTOR DE RIESGO	OR	IC 95%	P valor
Cirugía(13)	7,3	(1-53,8)	0,05
Nutrición parenteral (20)	2,48	(1,16-5,31)	≤0,001
Colonización por <i>candida</i> (141)	4,12	(1,82-9,33)	0,001
Terapia renal (136)	5,4	(2,5-11,8)	0,029
Shock séptico (20)	7,68	(4,14-14,22)	≤0,001
Ventilación mecánica (135)	28,2	(3,6-119,5)	≤0,001
APACHE II (142)	1,03	(1,01-1,05)	0,007
Antibioterapia previa(136)	3	(1,8-5)	0,028
Catéter de vía venosa central(145)	4,42	(1,95-10,02)	0,001

A partir del estudio de los factores de riesgo de candidemia y de su grado de impacto, se realizaron diferentes escalas de riesgo de padecer candidemia que facilitan la decisión de los profesionales médicos de cuándo iniciar la terapia antifúngica. Algunos de ellas son las siguientes:

- ✚ Candida Score (20): sensibilidad de 81% y especificidad de 74% (tabla 10)
- ✚ Ostrosky-Zeichner (137): sensibilidad de 34% y especificidad de 90% (tabla 11).
- ✚ Paphitou *et al.* (136): sensibilidad de 85% y especificidad de 50%.
- ✚ Pittet *et al.* (142): sensibilidad de 64.3% y especificidad de 69.6%.

Tabla 10. Candida Score. Si el paciente posee una puntuación mayor de 2,5 es indicativo de candidiasis invasiva.

FACTOR DE RIESGO	PUNTUACIÓN
Colonización multifocal por <i>Candida</i>	1
Cirugía	1
Nutrición parenteral	1
Shock séptico	2

La escala Candida Score se obtuvo a partir de un trabajo que incluyó 1699 pacientes mayores de edad, no neutropénicos ingresados en 73 UCI de 70 hospitales españoles desde mayo de 1998 a enero de 1999. Los pacientes se agruparon en tres grupos, los no colonizados ni infectados, colonizados por *candida* y pacientes infectados por *candida*. Se evaluaron las diferentes variables de los pacientes de los distintos grupos y se obtuvo que, aquéllos que había sufrido una cirugía previa presentaban el doble de riesgo de sufrir infección fúngica (OR = 2,71, IC 95%, 1,45-5,06), a los que se les detectó colonización multifocal tenían 3 veces más probabilidad de estar infectados (OR = 3,04, IC 95%, 1,45-6,39), los tratados con nutrición parenteral multiplicaban por 2,5 su riesgo de candidemia (OR = 2,48, IC 95%, 1,16-5,31) y finalmente, los pacientes que presentaban estado de sepsis/shock séptico tenían siete veces más riesgo de sufrir infección que los pacientes que no lo presentaban (OR = 7,68, IC 95%, 4,14-14,22). El Candida score se basa, por tanto, en el valor predictivo de diferentes factores de riesgo previamente demostrados, ajustado para posibles variables de confusión mediante un análisis de regresión logística. La puntuación asignada para cada factor de riesgo es: nutrición parenteral 1 punto, cirugía previa 1 punto, colonización multifocal por *candida* 1 punto y sepsis grave 2 puntos (tabla 10). Según los autores del estudio, un Candida score superior a 2 puede seleccionar a los pacientes que se beneficiarían de un tratamiento antifúngico temprano (sensibilidad del

81% y especificidad del 74%) (147). Según Leon *et al.* los pacientes que en la escala Candida Score obtuvieran una puntuación mayor de 2 serían candidatos para iniciar el tratamiento antifúngico temprano (123).

Tabla 11. Score Ostrosky -Zeichner.

VARIABLES DE LA ESCALA OSTROSKY-ZEICHNER
Estancia en UCI >72horas
Antibióterapia (1-3 días) y/o catéter de vía central (1-3 días) y dos o más de los siguientes:
Alguna cirugía
Pancreatitis
Inmunosupresores
Corticoides
Diálisis
Nutrición parenteral

La escala de riesgo de candidemia desarrollada por Ostrosky *et al.* se obtuvo a partir de revisiones que incluyeron 2.890 pacientes que permanecieron al menos 4 días en nueve hospitales de EE. UU. y Brasil del año 2000 a 2002 (dos años). El modelo estadístico demostró un riesgo de candidemia se multiplicaba por cuatro (RR 4,36 IC 95% 2,85 6,67 $P < 0,001$) (21, 137) en los pacientes tratados con antibióticos de amplio espectro (1-3 días) o portadores de catéter venoso central (1-3 días) y con al menos dos de los siguientes factores de riesgo: nutrición parenteral total (1-3 días), cualquier tipo de diálisis (1-3 días), cirugía mayor (-7-0 días), pancreatitis (-7-0 días), corticoides (-7-3 días) u otros tratamientos inmunodepresores (-7-0 días) (tabla 11). Esta regla tiene una sensibilidad del 34%, una especificidad del 90%

Ambas escalas son útiles en UCI para el inicio del tratamiento antifúngico ya que presentan una elevada sensibilidad y un elevado valor predictivo negativo (97-99%), sin embargo, tienen un valor predictivo positivo muy bajo (4% a 57%) (53, 148), es decir, la probabilidad de no presentar candidemia es alta es si el resultado obtenido en estas escalas es negativo. Sin embargo, la probabilidad de sufrir candidemia no es muy alta si el resultado es positivo. Este hecho es importante ya que, si indicamos tratamiento antifúngico empírico a basándonos en estas escalas, puede ser que estemos administrando

este tratamiento a un paciente que realmente que no lo necesite. Todo esto tiene gran importancia no sólo, por los posibles efectos secundarios y adversos de los antifúngicos que se administran sin realmente estar indicados, sino también por la repercusión económica que supone. Poves *et al.* expuso que se trató a 114 pacientes con equinocandinas, indicando el tratamiento empírico mediante las escalas Candida Score y Ostrosky-Zeichner y siguiendo las recomendaciones de la IDSA, y finalmente ninguno de ellos presentaban infección fúngica. Esto supone un gasto innecesario de 684.000 € (40, 41)

I.2.6.2 Antifúngicos utilizados en candidemia

✚ **Azoles:** son los más utilizados en el tratamiento de la candidemia. El mayor representante de este grupo es el **fluconazol**. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición del citocromo P-450 fúngico mediado por la desmetilación del 14-alfa-lanosterol, etapa fundamental en la biosíntesis del ergosterol fúngico. La acumulación de 14-alfa-metil esteroides se relaciona con la consiguiente pérdida de ergosterol en la membrana de la célula fúngica y responsable de la actividad antifúngica de fluconazol. Se puede encontrar no sólo en formulaciones intravenosas, sino también orales con una alta biodisponibilidad. Otra ventaja a destacar es su bajo coste en comparación con las equinocandinas. Este azol es el único agente antifúngico para el que se dispone de información considerable sobre las tendencias de resistencia antifúngica y las directrices bien estandarizadas para las pruebas de sensibilidad (55). La resistencia al fluconazol ha ido aumentando en los últimos años en todo el mundo siendo en la actualidad en Europa de 6.3% y en EEUU 6.6% (50). En España, hace pocos años el 90% de las especies *candida* eran susceptibles, sin embargo, ahora lo son menos del 80%. Por otra parte, han aumentado las especies *candida no-albicans* las cuales muestran mayor porcentaje de resistencia, en especial *c.tropicalis* y *c.krusei* (17, 143), presentando esta última mayor tasa de mortalidad (149).

✚ **Anfotericina B:** antifúngico de uso parenteral y oral obtenido por fermentación del *Streptomyces nodosus*, un actinomiceto del suelo. Su mecanismo de acción consiste en la unión a los esteroides de las membranas celulares tanto de los hongos como humanas, deteriorando la integridad de las mismas. Esto se traduce en una pérdida de potasio y otros contenidos celulares. La mayor afinidad de la

anfotericina B hacia el ergosterol, un esteroles encontrado en las membranas de los hongos, es la clave de su acción antifúngica. Sin embargo, como el fármaco se une también al colesterol (esteroles preferente de las membranas de las células humanas) la anfotericina B presenta algunos efectos tóxicos, en particular a nivel renal, por ello, aunque tiene una acción rápida contra la mayoría de las cepas de las especies de *candida* (especialmente *c.albicans*), no es la primera opción para el tratamiento de casos de candidemia (55, 150). Las tasas de resistencias a Anfotericina B no están muy claras, pero sí que parece que las especies *candida glabrata*, *tropicalis* y *krusei* pueden afectarse con dosis altas de este antifúngico y por tanto mayor toxicidad.

✚ **Equinocandinas:** Son lipopéptidos derivados a partir de un producto original sintetizado por un hongo. Su mecanismo de acción consiste en la inhibición de la 1,3- β -glucanosintetasa, enzima responsable de formar polímeros de glucano esenciales para la estructura de la pared fúngica. Caspofungina, micafungina y anidulafungina son los diferentes tipos que tenemos en la actualidad. Sólo se pueden administrar vía intravenosa y es necesaria una dosis de carga inicial(151). Han demostrado una gran eficacia in vitro e in vivo en el tratamiento de candidemia. La tendencia emergente de resistencia a fluconazol y otros triazoles entre los aislamientos de *candida* de BSI ha hecho que las equinocandinas adquieran gran importancia. Las personas con riesgo de resistencia a los azoles (tratamiento previo con azoles, hospitalización prolongada o inmunosupresión grave) reciben cada vez con más frecuencia este tipo de tratamiento empírico mientras esperan los resultados de las pruebas de susceptibilidad antifúngica. Las equinocandinas tienen menos toxicidad relacionada con los medicamentos en comparación con la anfotericina B. Una gran desventaja de estos fármacos es su elevado coste económico. Las tasas de resistencia son muy bajas, habiéndose descrito algunos casos de resistencia de *c. parapsilosis* (17).

I.2.6.3 Guías de tratamiento IDSA y ESCMIC (127, 133)

Ambas guías, IDSA (EEUU) y ESCMIC (EU) (tabla 12), indican que el comienzo temprano y adecuado de la candidemia mejora los resultados de supervivencia. Para llevar esto a cabo, antes de comenzar la terapia antifúngica se debe observar cuál es el estado del paciente y qué tratamientos antifúngicos ha sufrido en el ingreso.

Así en pacientes con candidemia que presentan estabilidad hemodinámica y no han recibido anteriormente azoles, el tratamiento de elección es fluconazol por el mayor conocimiento de su farmacocinética. En pacientes que presentan inestabilidad hemodinámica y/o tratamiento anterior con fluconazol, el tratamiento de elección será una equinocandina teniendo como alternativas las formulaciones lipídicas de anfotericina B (tabla 12). Deben realizarse hemocultivos control durante el tratamiento antifúngico y mantenerse este último durante 14 días tras la negativización del cultivo.

Tabla 12. Recomendaciones de la IDSA Y ESCMID para el tratamiento de candidemia en pacientes no neutropénicos. Adaptación de la tabla realizada por Antinori *et al.* (53).

SÍNDROME CLÍNICO	IDSA 2016 (133)	ESCMID 2012 (127)
Candidemia en pacientes no neutropénicos.	<p>Equinocandina IA Fluconazol: aceptable alternativa en pacientes no críticos y sin resistencia a azoles. Amfotericina B liposomal: Alternativa razonable en casos de intolerancia</p>	<p>Equinocandina IA Anfotericina B liposomal IB Voriconazol IB Fluconazol IC</p>

I.2.6.4 Nuevos biomarcadores y tratamientos para candidemia

La mortalidad por candidemia no ha demostrado ser menor en pacientes tratados con los nuevos antifúngicos (152-154). Así Chapman *et al.* en un trabajo realizado de 2014 a 2015 en Australia describió una mortalidad equiparable entre los pacientes con candidemia que fueron tratados con azoles y los tratados con equinoscandinas (23). Parkins *et al.* en un estudio en 2007 de 207 pacientes con candidiasis invasiva, describió que el tratamiento empírico realizado sólo fue efectivo en el 26% de los casos(22). Zillberg *et al.* en una cohorte de 90 pacientes con candidemia obtuvo que el tratamiento fue inapropiado en el 88.9% de los casos (24). Es por todo ello que están en desarrollo nuevos métodos que afecten no sólo al patógeno, sino también a la inmunidad del huésped-

Como hemos dicho anteriormente, *candida* es un hongo oportunista que vive como comensal del ser humano (68, 69) y sólo causa infección cuando las barreras inmunitarias fallan. Por otra parte, la propia candidemia lleva a un estado de inmunodepresión por potenciar los mecanismos de apoptosis de las células inmunitarias y las respuestas Th2. Los nuevos estudios se basan en la potenciación del estado inmunitario, administrando interleucinas o anticuerpos prediseñados.

En infecciones como la producida por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), donde los linfocitos han demostrado tener un papel protagonista en su patogenia, se han llevado a cabo ensayos clínicos con IL-7. Este tratamiento ha demostrado un aumento de la supervivencia por expansión de las células T (93, 100). En la sepsis y shock séptico se han desarrollado trabajos que estudian la inmunoterapia como tratamiento conjunto con la antibioterapia y el tratamiento de soporte (155), basándose en las alteraciones inmunitarias que se producen durante estos cuadros (156, 157). Así Leentjens *et al.* que describen como nueva terapia la inducción de producción de IL-7 e interferón gamma para aumentar la población de células T y así invertir la inmunoparálisis que acontece en el shock séptico (158). Zhang *et al.* expusieron en un estudio experimental que el bloqueo de la proteína PD- L1, la cual induce apoptosis de los linfocitos, mejora los resultados de supervivencia (99).

Estos mismos estudios se están llevando a cabo en ratones con candidemia dando en la actualidad resultados positivos (30). El tratamiento con IFN gamma parece ser que potencia la diferenciación de linfocitos T “naive” a linfocitos Th17 (56), que se asocia a mayor supervivencia (46, 159, 160). El tratamiento con IL-7 en ratones con infección candidiásica consiguió aumentar los linfocitos T y disminuyó la mortalidad en los ratones tratados con esta inmunoterapia (30). Vonk *et al.* en 2006 describieron los mecanismos inmunitarios implicados en la patogenia de la candidemia provocada por *candida albicans* y las implicaciones que esto podía tener para una posible inmunoterapia (29). Otros trabajos, se han centrado en la producción de anticuerpos “anti-candidiasis” y su administración en ratones que previamente habían sido inmunosuprimidos artificialmente. La administración de estos anticuerpos “anti-candida” demostraron un incremento de la supervivencia (78, 79, 161).

Por tanto, podemos decir que los esfuerzos realizados por los expertos para el tratamiento de la candidemia, están tomando una nueva dirección a favor de la inmunidad del huésped, y en especial hacia la expansión de los linfocitos.

II. JUSTIFICACIÓN

La candidemia es la cuarta causa de bacteriemia nosocomial en hospitalizaciones convencionales y la tercera en unidades de cuidados intensivos. Su incidencia es elevada y ha ido en aumento en las últimas décadas, existiendo actualmente en EEUU 0,28-0,57 casos por 1000 hospitalizaciones, en Europa 0,38-1,55 casos por 1000 hospitalizaciones y en España 0,89 casos por cada 1000 ingresos (64, 153). Su mortalidad es mayor del 40% en UCI (64) y los gastos directos que conlleva son elevados, ya que la estancia hospitalaria de un paciente con esta infección es mucho mayor a la de los pacientes que no la presentan y el tratamiento antifúngico que se precisa tiene un coste elevado. En EEUU son necesarios 45,000 a 77,534 dólares por cada caso de candidemia, incrementando los gastos hospitalarios hasta en 33.000 \$ frente a los pacientes que no sufren la enfermedad y en España, sólo el tratamiento con equinocandinas supone mínimo 6000€(162). Debido a todas estas razones, a infección candidemia se ha tratado como un problema de salud pública.

Con el propósito de mejorar los resultados de prevalencia, estancia y costes hospitalarios y lo más importante, su tasa de mortalidad, se han llevado a cabo durante décadas diversos estudios para conseguir un diagnóstico y tratamiento eficaz y precoz de candidemia, ya que ambas son medidas que han demostrado aumentar la supervivencia de los pacientes que la padecen. El test de referencia para el diagnóstico de candidemia es el cultivo y posterior visualización directa de la especie *candida* en sangre, pero es una determinación lenta, con bajo valor predictivo positivo. Otros factores como los marcadores infecciosos séricos (leucocitos, PCR, procalcitonina) y las escalas Candida Score y/o Ostrosky-Zeichner son los que de manera indirecta nos indican la presencia de candidemia y por tanto la indicación del comienzo del tratamiento precoz de manera empírica.

En la actualidad, el tratamiento de la candidemia se basa en la terapia con antifúngicos, cuyo mecanismo de acción se centra en evitar el crecimiento y provocar la muerte del hongo. A pesar de contar con diferentes antimicóticos, la mortalidad sigue siendo elevada y es por ello que los nuevos trabajos tienen como objetivo determinar el grado de importancia del estado inmune del huésped y su potenciación como método terapéutico contra la candidemia, basándose en la patogenicidad de la infección.

Candida es una especie fúngica que actúa como comensal del ser humano. Cuando logra vencer las primeras barreras inmunitarias y llegar al torrente sanguíneo provoca

candidemia. Esta infección fúngica cursa con una respuesta inmunitaria en la que la inmunidad innata y adaptativa se enlazan gracias a la actividad de las células presentadoras de antígeno, las citoquinas, el complejo mayor de histocompatibilidad y los linfocitos. La gran apoptosis de los linfocitos T que se desencadena está en relación con la progresión de la infección. La patogenia de la candidemia respalda la relevancia que presenta la fórmula leucocitaria en su diagnóstico, donde los linfocitos son las células clave y su valoración nos podría facilitar el pronóstico del paciente. Por otro lado, los estados de linfopenia y neutropenia se han descrito como factor de riesgo en sepsis y también se ha llegado a establecer un valor de neutrófilos como punto de corte de riesgo de mortalidad en sepsis (105). En un trabajo en el que se estudió la neumonía comunitaria, se marcó un valor de linfocitos por debajo del cual existía mayor riesgo de mortalidad (163, 164).

Dada la importancia de la expansión de linfocitos en la supervivencia de los pacientes con candidemia, pudiendo ser éste uno de los objetivos de los nuevos tratamientos de esta enfermedad, y que medición de la fórmula leucocitaria es una prueba de rutina que no incrementa los gastos en los diferentes hospitales de nuestro ámbito, creemos en la necesidad de realizar un estudio que valore el recuento de linfocitos como factor de riesgo de mortalidad.

El objetivo de nuestro trabajo es definir si el recuento bajo de linfocitos de manera persistente es un factor de riesgo de gran impacto en la mortalidad de candidemia. Por otro lado, queremos determinar un punto de corte de linfocitos que sirva como valor pronóstico en los pacientes con candidemia. En nuestra opinión, este valor en un futuro, podría utilizarse para designar la necesidad de inmunoterapia asociada a tratamiento antifúngico convencional para mejorar los resultados de mortalidad y estancia hospitalaria y con ello los recursos económicos en candidemia

III. OBJETIVOS

III.1 Objetivo principal

Determinar si el recuento persistentemente bajo de linfocitos se asocia a mayor mortalidad en pacientes con candidemia.

III.2 Objetivos secundarios

- Determinar la incidencia de candidemia en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid.
- Describir las características clínicas de los pacientes con candidemia que fallecieron y de los que no fallecieron.
- Determinar la mortalidad de los pacientes con candidemia en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid.
- Establecer el valor de linfocitos umbral por debajo del cual exista mayor riesgo de mortalidad a los 30 días del diagnóstico de candidemia.

IV. MATERIAL Y MÉTODO

IV.1 Diseño del estudio y población a estudio

Diseñamos un estudio observacional retrospectivo en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid que es un hospital público, universitario y de tercer nivel que cuenta con 717 camas. Tiene un área de población asignada de aproximadamente 300.000 habitantes. Al ser centro de referencia para diferentes especialidades como cirugía pediátrica, vascular, cardíaca, torácica, neurología (Unidad de Ictus) así como centro de realización de trasplantes renales y cardíacos, la población que accede a los servicios de este hospital puede crecer hasta 500.000 habitantes.

La población incluida en el estudio, fueron aquellos pacientes de raza caucásica con hemocultivo positivo para especie *candida* desde enero de 2007 a diciembre de 2016 según los registros médicos informáticos del Hospital Clínico Universitario de Valladolid. Los pacientes se dividieron en grupo vivos y muertos. Este estudio recibió la aprobación del Comité de Investigación del centro (anexo 2). Para la inclusión de los pacientes en el estudio no se precisó consentimiento informado, ya que no se realizaron prácticas fuera de la actividad habitual. Todos los datos se recopilaron anónimamente de la base de datos del hospital con fines científicos, de conformidad con la ley española que regula los asuntos de privacidad personal.

IV.1.1 Criterios de inclusión

- Pacientes mayores de 18 años.
- Pacientes hospitalizados en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid en los años de 2007 a 2016.
- Pacientes con hemocultivo positivo para especie *candida* en el tiempo del estudio.

IV.1.2 Criterios de exclusión

- Pacientes menores de 18 años.
- Pacientes diagnosticados de colonización por especie *candida*.
- Pacientes que presentaban algún tipo de inmunosupresión.
- Pacientes que no presentaran hemocultivo positivo para *candida*.

IV.2 Definición de las variables del estudio

IV.2.1 Variable principal

- ✚ Mortalidad hospitalaria a los 30 días del diagnóstico de candidemia.

IV.2.2 Variables secundarias

Son aquellas que forman parte de las características antropológicas y demográficas del paciente, su comorbilidad, definida como enfermedades crónicas diagnosticadas antes del ingreso, y las variables clínicas, microbiológicas y de laboratorio que se recogen durante el ingreso hospitalario.

- ✚ Demencia: Pacientes con informes médicos en los que se establezca que presenta pérdida o debilitamiento de las facultades mentales, generalmente grave y progresivo, debido a la edad o a una enfermedad, que se caracteriza por alteraciones de la memoria y la razón y trastornos en la conducta.
- ✚ EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica): Pacientes con informes médicos en los que se establezca dicho diagnóstico, o que usen de forma crónica medicación broncodilatadora por vía inhalatoria.
- ✚ Diabetes mellitus: Presencia de cifras de glucemia en ayunas elevadas en el tiempo, que requieran tratamiento dietético, antidiabéticos orales o insulina subcutánea para su control.
- ✚ Enolismo: Consumo crónico y continuado o consumo periódico de alcohol que conlleva dependencia física y psicológica en la persona.
- ✚ Insuficiencia renal crónica: Pacientes con informes médicos en los que conste un diagnóstico establecido de insuficiencia renal crónica; o bien pacientes que estén en programa de hemodiálisis o diálisis peritoneal para el tratamiento de la insuficiencia renal terminal, de forma continuada y permanente.
- ✚ Cirrosis: Pacientes con informes médicos en los que conste este tipo de patología hepática.

- ✚ Sepsis: Desde el año 2016, en el tercer consenso internacional de definición de sepsis y shock séptico, se definió sepsis como una disfunción orgánica potencialmente mortal causada por una respuesta desregulada del huésped a la infección (81, 165).
- ✚ Shock Séptico: se define como un subconjunto de sepsis en el que las anomalías subyacentes del metabolismo celular y circulatorio son lo suficientemente profundas como para aumentar sustancialmente la mortalidad. Los criterios utilizados para su diagnóstico son hipotensión (PAM <65 mmHg) persistente que precisa de vasopresores y valores de lactato sérico > 18 mg/dl (81, 165).
- ✚ Ventilación mecánica prolongada: pacientes que recibieron ventilación mecánica durante más de 48 horas (166).
- ✚ Terapia de sustitución renal: Empleo de técnicas de hemodiálisis o hemodiafiltración veno-venosa continua sólo durante el ingreso. Se consideró en caso de trastornos de potasio, desequilibrios ácido-base, sobrecarga de líquidos o azotemia pronunciada (167, 168).
- ✚ Candidemia: se define por la detección de especie *candida* en sangre en uno o más hemocultivos de un paciente durante su estancia hospitalaria (134, 169). Si el paciente presenta más de un episodio de candidemia durante el estudio, sólo se valorará el primero. El diagnóstico de candidemia se realizó con la observación directa de especie *candida* en hemocultivo con el medio de cultivo fue Sabouraud. Las muestras se obtuvieron en dos series de hemocultivos de sitios periféricos de pacientes con fiebre (≥ 38.0 °C) o presentación clínica sugestiva de infección y se enviaron al laboratorio clínico del Departamento de Microbiología. Las muestras de sangre se analizaron utilizando un sistema BACTEC 9240® (Becton-Dickinson Microbiology Systems, Franklin Lakes, NJ, EE. UU.) o BacT / Alert® (BioMérieux SA, Marcy L'Etoile, Francia).
- ✚ Linfocitos en sangre: Una vez establecido el diagnóstico de candidemia se realizó el recuento leucocitario a partir de las muestras sanguíneas obtenidas durante 5 días consecutivos, considerándose primer día el día que se estableció el diagnóstico. Esta medición se realizó en sangre extraída en tubos de ácido etilendiaminotetraacético utilizando el analizador automático XE 5000 Sysmex®

(Sysmex, Kobe, Japón) que basa su funcionamiento en la técnica de láser adaptado a citometría de flujo. Se definió linfopenia como presencia de menos de 1000 linfocitos/ mm³ en sangre (170).

- ✚ Empleo de vía venosa central: pacientes que han precisado durante su ingreso cateterización de vena central ya sea para administración de medicación específica o para nutrición parenteral.
- ✚ Nutrición parenteral: pacientes que han recibido nutrientes por vía venosa durante su ingreso hospitalario en el estudio.
- ✚ Candida Score: sistema de puntuación (score) que permite identificar a los pacientes críticos no neutropénicos, con sospecha de candidemia, que se beneficiarían de un tratamiento antifúngico temprano.
- ✚ Ostrosky-Zeichner: regla capaz de predecir el desarrollo de candidemia en pacientes críticos.
- ✚ Cirugía: La intervención quirúrgica primera realizada y que condiciona el ingreso del paciente en la Unidad de Reanimación para los cuidados postoperatorios.

IV.3 Análisis estadístico

Las variables categóricas se expresaron como número y porcentaje, y las variables continuas como media \pm desviación estándar o mediana y rango intercuartílico según tuvieran o no una distribución normal. El supuesto de normalidad se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk o Kolmogorov-Smirnov.

Las diferencias entre el grupo de supervivientes y el de muertos de las distintas variables estudiadas se determinaron mediante la prueba de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fisher (cuando las frecuencias esperadas eran < 5) para las variables categóricas, y las pruebas de la T de Student o de la U de Mann-Whitney para las variables continuas según tuvieran o no criterios de normalidad.

Se llevó a cabo un análisis de regresión logística univariante (Odds Ratio, Intervalo de confianza 95%,) para determinar qué variables tenían una relación con la mortalidad a los

30 días del episodio de candidemia. A continuación, se realizó un análisis de regresión logístico multivariante por pasos hacia adelante en el que se introdujeron las variables que en el análisis univariante mostraron un valor de $p < 0,1$.

El punto de corte óptimo de número de linfocitos por debajo del cual se observaba una mayor mortalidad por candidemia se obtuvo mediante el análisis del árbol de clasificación y regresión (CART), que es ideal para generación de toma de decisiones clínicas (171-173), y su capacidad para valorar la mortalidad a los 30 días del diagnóstico de candidemia se determinó mediante la regresión logística multivariante. Para llevar a cabo la calibración del modelo se realizó la prueba de Hosmer-Lemeshow.

Las curvas de Kaplan-Meier se utilizaron para mostrar la probabilidad de supervivencia a los 30 días atendiendo al nivel de recuento de linfocitos.

Todas las pruebas fueron de 2 colas. Se informaron las Odds ratio (OR) con un 95% de IC y los valores de p . El nivel de significación se estableció en $p \leq 0,05$.

Para el análisis estadístico de los datos se utilizó el programa informático IBM SPSS Statistics para Windows versión 24.0 (IBM Corp, Armonk, Nueva York). excepto para realizar el análisis CART para el que utilizamos “R Software” versión 3.6.0 (R Core Team, R foundation for Statistical computing, Viena, Austria)

V. RESULTADOS

V.1 Características de la población de estudio

Entre enero de 2007 y diciembre de 2016, en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid, 296 pacientes fueron diagnosticados de candidemia con hemocultivo positivo, cumpliendo los criterios de inclusión en este estudio. Durante el mismo tiempo 257.525 pacientes ingresaron en el hospital, por lo que la incidencia anual media de candidemia, siguiendo nuestros criterios, fue de 1,15 casos por 1000 ingresos hospitalarios. Un 38,9% de los pacientes con candidemia fallecieron.

En la tabla 13 se describen las características demográficas y comorbilidad de los pacientes incluidos en el estudio. La edad media de presentación fue 63 años, siendo la incidencia superior en hombres que en mujeres y la morbilidad más frecuente previa al diagnóstico la Diabetes Mellitus (25,2 %), la insuficiencia cardiaca congestiva (23,5%) e insuficiencia renal crónica (17,4%). Un 38,9% de los pacientes murieron en los siguientes 30 días desde el diagnóstico. Aquéllos que murieron eran significativamente de más edad ($p \leq 0,001$) que los que sobrevivieron, sin haber diferencias significativas en la comorbilidad previa al diagnóstico (tabla 13)

Tabla 13. Características demográficas y comorbilidad de los pacientes con candidemia. Los valores se expresan en número absoluto y y media +/- desviación estándar- La significación estadística se definió como $p \leq 0,05$.

VARIABLE	TOTAL n=296	VIVOS n=181 (%)	EXITUS n=115 (%)	P VALOR
Edad	63 ± 17.4	60 ± 19	68 ± 13	≤0,001
Sexo				
Hombres	177(59,4 %)	102(56,4 %)	74(64,3 %)	0,172
Comorbilidades				
Demencia	6(2 %)	5(2,8 %)	1(0,9 %)	0,260
Enolismo	23(7,8 %)	12(6,6 %)	11(9,6 %)	0,358
EPOC	33 (11,2 %)	20(11%)	13(11,3 %)	0,972
Diabetes Mellitus	61(20,6 %)	32(17,7 %)	29(25,2 %)	0,124
IRC	49 (16,6 %)	28(15,5 %)	20(17,4 %)	0,662
Cirrosis	10(3,4 %)	5(2,8 %)	5(4,3 %)	0,518
ICC	56(18,9 %)	29(16,0 %)	27(23,5 %)	0,260

Abreviaturas: EPOC, enfermedad pulmonar obstructiva crónica; IRC, insuficiencia renal crónica; ICC, insuficiencia cardiaca crónica.

V.2 Características clínicas intrahospitalarias

Un 42,6% de los pacientes con candidemia se sometieron a una cirugía durante su ingreso hospitalario y un 49,3% del total de la muestra desarrollaron un shock séptico. Aquéllos que murieron tuvieron significativamente con más frecuencia un shock séptico ($p \leq 0,001$), precisaron más veces ventilación mecánica prolongada (VMP) ($p \leq 0,001$), la colocación de catéter venoso central (CVC) ($p = 0,004$) y nutrición parenteral total (NPT) ($p \leq 0,001$); sin embargo, no se observaron diferencias en cuanto al hecho de haberse sometido o no a una intervención quirúrgica ($p = 0,223$) o a terapia de sustitución renal (TSR) ($P = 0,060$) (tabla 14).

Tabla 14. Variables registradas durante el ingreso hospitalario.

VARIABLE DE INGRESO	TOTAL n=296 (%)	VIVOS n=181 (%)	EXITUS n=115 (%)	P valor
Ventilación mecánica prolongada (VMP)	123 (41,6)	58 (32,0)	65 (56,4)	$\leq 0,001$
Catéter venoso central (CVC)	146 (49,3)	81 (44,8)	65 (56,5)	0,004
Terapia de sustitución renal (TSR)	56 (18,9)	28 (15,5)	28 (24,3)	0,060
Nutrición parenteral total (NTP)	82 (27,7)	35 (19,3)	46 (40,0)	$\leq 0,001$
Cirugía previa	126 (42,6)	72 (39,8)	54 (47,0)	0,223
Shock séptico	146 (49,3)	70 (38,7)	75 (65,2)	$\leq 0,001$

Los pacientes con candidemia que murieron presentaron una puntuación mayor significativa en la escala Candida Score ($p \leq 0,001$) y Ostrosky-Zeichner (0,001). De todos los pacientes, sólo el 41,2% fueron tratados con equinocandinas, tratándose con estos

antifúngicos el 40% de todos los pacientes fallecidos, no obteniendo este dato significación estadística (Tabla 15).

Tabla 15. Variables relacionadas con el diagnóstico y tratamiento durante el ingreso hospitalario.

VARIABLE DE INGRESO	TOTAL n=296 (%)	VIVOS n=181 (%)	EXITUS n=115 (%)	P valor
Equinocandinas	122 (41,2)	76 (42,0)	46 (40,0)	0,735
CANDIDA SCORE	2,0 ± 1,9	2,0 ± 1,8	3,0± 1,9	≤0,001
OSTROSKY	2,4 ± 2,2	1,9 ± 2,0	3,0 ± 2,2	≤0,001

La especie *candida* más frecuentemente encontrada fue *candida albicans* (60,4%) seguida de *candida parapsilosis* (13,5%), *candida glabrata* (12,5%), *candida tropicalis* (9,8%) y *candida lusitaniae* (4,1%) (Tabla 16).

Tabla 16. Especies *candida* registradas en hemocultivos de pacientes con candidemia.

VARIABLE	TOTAL n=296 (%)	VIVOS n=154(%)	EXITUS n=142(%)	P valor
Especie <i>candida</i>				
<i>C. albicans</i>	179 (60,4)	96 (62,3)	83 (58,5)	0,905
<i>C. parasilopsis</i>	40 (13,5)	21 (13,6)	17 (12,0)	0,525
<i>C. glabrata</i>	36 (12,5)	20 (13,0)	16 (11,3)	0,621
<i>C. tropicalis</i>	29 (9,8)	11 (7,1)	18 (12,7)	0,076
<i>C. lusitaniae</i>	12 (4,1)	4 (2,6)	8 (5,6)	0,254

V.3 Impacto del recuento de linfocitos en la mortalidad y la supervivencia

El recuento absoluto de linfocitos se mantuvo significativamente más elevado durante los cinco primeros días del diagnóstico de candidemia en el grupo de supervivientes frente al de éxitus (tabla 17.).

Tabla 17. Recuento linfocitario durante los primeros cinco días desde el diagnóstico de candidemia.

VARIABLE DE INGRESO	TOTAL n=296 ,mediana (IQR)	VIVOS n=181 ,mediana (IQR)	EXITUS n=115 ,mediana (IQR)	P valor
Linfocitos día 1 x10 ⁹ células/L	0,952 (1,588-0,462)	0,998 (1,746-0,535)	0,778 (1,364-0,410)	0,045
Linfocitos día 2 x10 ⁹ células/L	0,900 (1,688-0,480)	0,979 (1,745-0,543)	0,680 (1,372-0,404)	0,038
Linfocitos día 3 x10 ⁹ células/L	0,935 (1,567-0,452)	1,058 (1,614-0,613)	0,747 (1,450-0,310)	0,010
Linfocitos día 4 x10 ⁹ células/L	0,922 (1,633-0,513)	1,078 (1,803-0,581)	0,753 (1,211-0,418)	0,011
Linfocitos día 5 x10 ⁹ células/L	0,947 (1,588-0,526)	1,58 (1,750-0,611)	0,858 (1,203-0,478)	0,050

El análisis CART identificó un recuento de linfocitos $<0,703 \cdot 10^9$ células / L en el momento del diagnóstico o día 1 y $<1,272 \cdot 10^9$ células / L a los cinco días de éste como valor de corte óptimo con mayor riesgo de mortalidad en pacientes con candidemia (Fig.20).

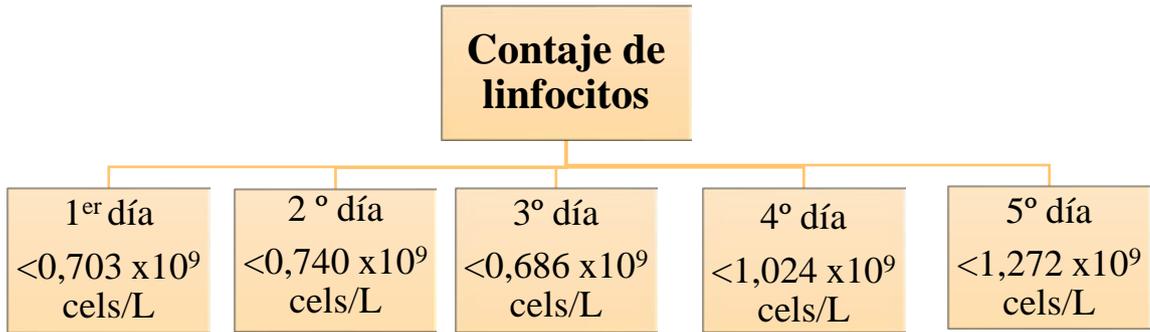


Figura 20. Árbol de decisión generado por el análisis del Árbol de clasificación y regresión (CART), estratificando el conteo de linfocitos

Los pacientes con recuentos de linfocitos mayor que el valor umbral, tanto en el día 1 ($0,703 \times 10^9$ células / L) como en el 5 ($1,272 \times 10^9$ células / L) del diagnóstico, fueron los que presentaron una mayor supervivencia. Los que demostraron una peor supervivencia fueron aquéllos que tuvieron un recuento de linfocitos menor que el valor umbral el primer día del diagnóstico, más que aquellos que presentaban valores inferiores al umbral a día 5 ($p \leq 0,001$ Fig. 22).

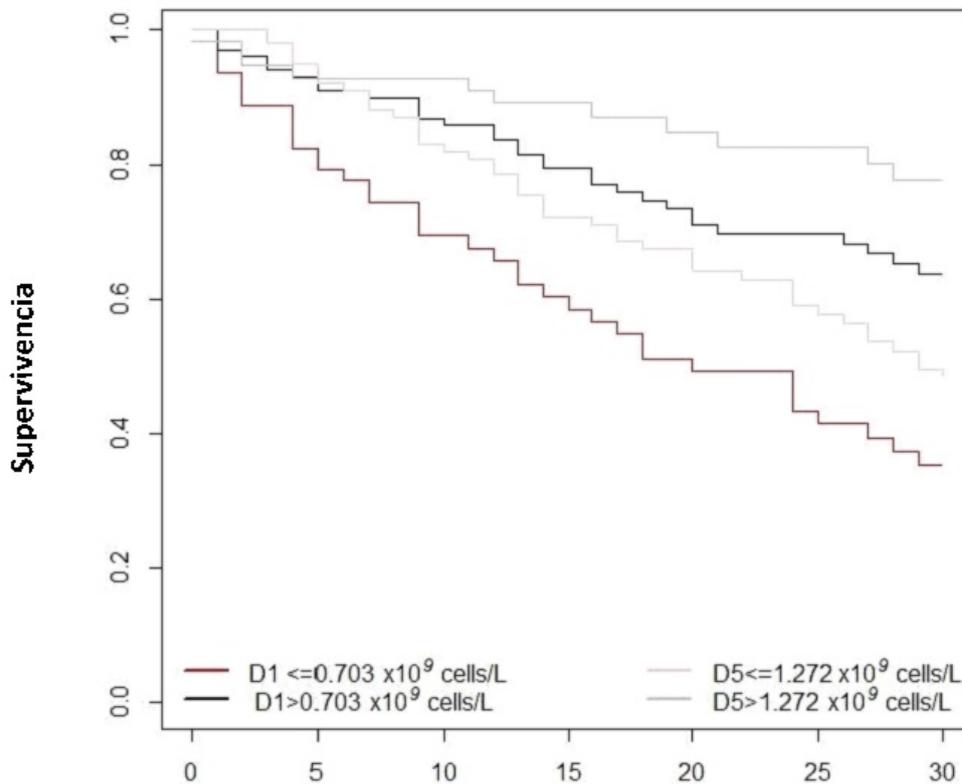


Figura 21. Supervivencia de pacientes con candidemia atendiendo al-recuento de linfocitos el primer día del diagnóstico (D1) y el quinto (D5)

V.4 Análisis de riesgo de mortalidad

El análisis de regresión univariante identificó una asociación significativa entre la mortalidad a los 30 días y la edad (OR 1,03; IC del 95%, 1,02 a 1,05), la necesidad de tratamiento con ventilación mecánica mayor de 48 horas (OR 2,73; 95% IC, 1,69 a 4,43), shock séptico (OR 2,95; IC del 95%, 1,81 a 4,80) y el valor de Candida Score mayor de 2 (OR 1,28; IC del 95%, 1,13 a 1,45), igualmente con los valores de corte de linfocitos identificados por el análisis CART, durante los cinco primeros días del diagnóstico de candidemia (Tabla 18).

Tabla 18. Análisis de regresión univariante para mortalidad asociada con candidemia

VARIABLE	OR (95% IC)	p-Valor
Edad	1,030 (1,01-1,05)	≤0,001
Shock séptico	2,946 (1,81-4,80)	≤0,001
VMP	2,734 (1,69-4,43)	≤0,001
CANDIDA SCORE	1,282 (1,13-1,45)	≤0,001
Linfocitos 1º día <0,703x10⁹ células/L	3,11 (1,62-5,98)	≤0,001
Linfocitos 2º día <0,740x10⁹ células/L	2,108 (1,16-3,83)	0,014
Linfocitos 3º día <0,686 x10⁹ células/L	2,213 (1,23-3,97)	0,008
Linfocitos 4º día <1,024 x10⁹ células/L	2,737 (1,40-5,36)	0,003
Linfocitos 5º día <1,272x10⁹ células/L	3,435 (1,60-7,38)	0,002

Abreviaturas: OR, Odds ratio; IC, intervalo de confianza; VMP, ventilación mecánica prolongada >48 horas.

Las variables anteriormente descritas, se introdujeron en un análisis de regresión logística multivariante, y se observó que existía una asociación independiente entre la

edad, tratamiento con ventilación mecánica prolongada (VMP), recuento de linfocitos al primer día y linfocitos al 5° día del diagnóstico y la mortalidad a los 30 días del diagnóstico de candidemia, siendo la variable con una asociación más fuerte el tener un recuento de linfocitos $< 0,703 \times 10^9$ células/L el primer día del diagnóstico de candidemia (OR 5,01; IC 95%, 2,29 a 10,93).

En el momento del diagnóstico, un recuento de linfocitos menor de $0,703 \times 10^9$ células/L aumenta las probabilidades de mortalidad 5,01 veces (OR 5,01; IC 95%, 2,29 a 10,93). Además, un recuento de linfocitos menor de $1,272 \times 10^9$ células/L cinco días después del diagnóstico, hace que la probabilidad de morir a los 30 días del diagnóstico sea 3 veces mayor (OR 3,27; IC 95%, 1,24 a 8,62; $p < 0,001$) (Tabla 19).

Tabla 19. Análisis de regresión multivariable para la mortalidad asociada con la candidemia utilizando linfocitos como variable dicotómica

VARIABLE	Análisis Multivariable día 1		Análisis Multivariable día 5	
	OR (95%IC)	p-Valor	OR (95%IC)	p-Valor
EDAD	1,49 (1,02-1,08)	$\leq 0,001$	1,05 (1,01-1,08)	0,012
VMP	3,07 (1,44-6,51)	0,004	3,98 (1,77-8,95)	$\leq 0,001$
Linfocitos 1° día <0,703x10⁹cels/L	5,01 (2,29-10,93)	0,002		
Linfocitos 5° día <1,272x10⁹cels/L			3,27 (1,24-8,62)	0,016

La curva ROC de este modelo de regresión logística realizado para calcular la probabilidad de mortalidad a los 30 días tiene un área bajo la curva (AUC) (95% IC)= 0,783 (0,700-0,867) cuando es el primer día del diagnóstico y un área bajo la curva igual a 0,791 (0,716-0,866) al 5° día.

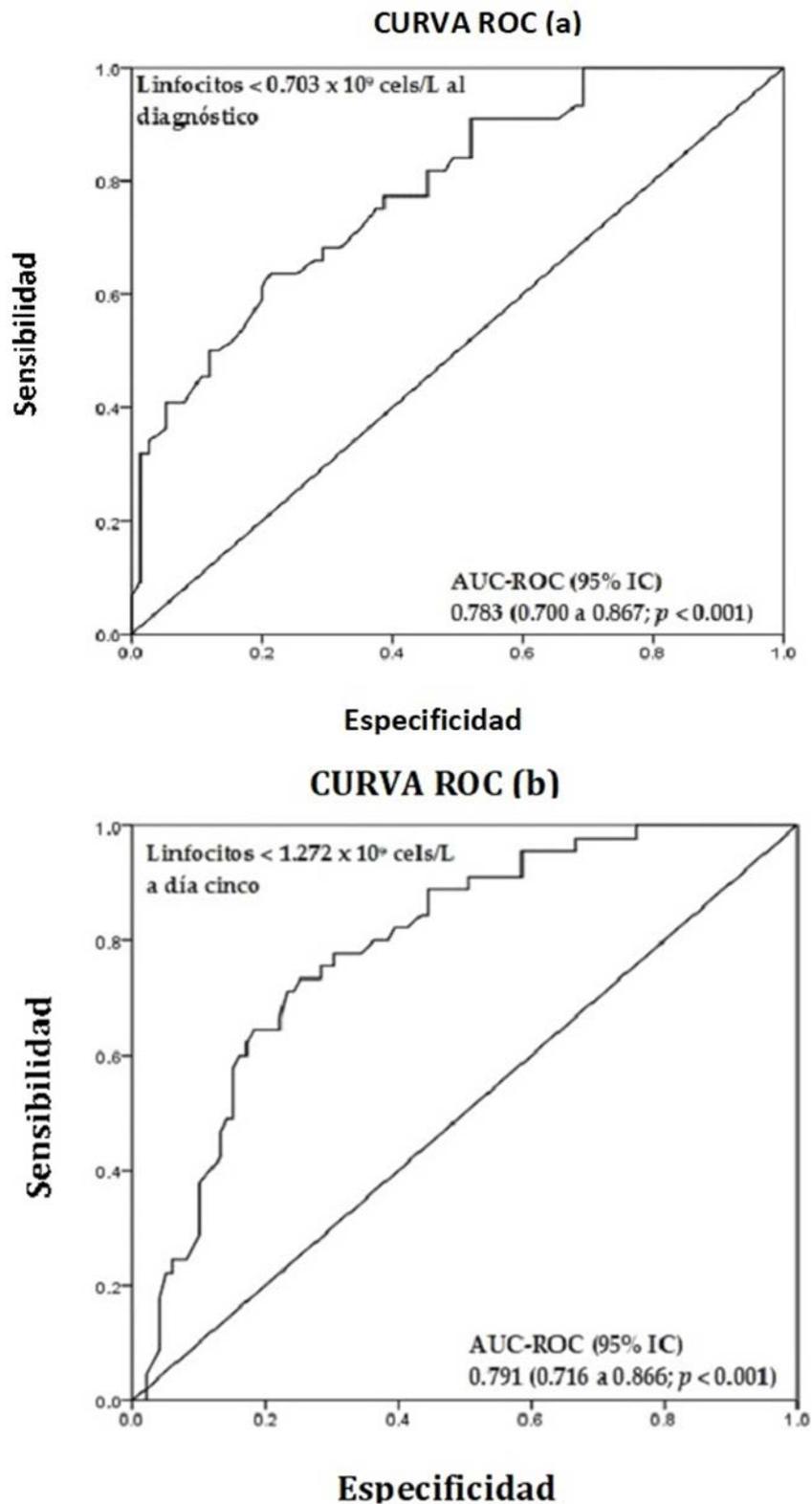


Figura 22. Modelo de regresión logística multivariable para recuento de linfocitos $< 0,703 \times 10^9$ células/L en el diagnóstico (a), y recuento de linfocitos $< 1,272 \times 10^9$ células / L para el día 5 (b). Abreviaturas: IC, intervalo de confianza; AUC-ROC, área bajo la característica de operación del receptor de curva.

VI. DISCUSIÓN

En el presente estudio observacional retrospectivo de enero de 2007 a diciembre de 2016 hemos determinado que la incidencia de candidemia en un hospital terciario español como es el Hospital Clínico Universitario de Valladolid es de 1,15 casos por cada 1000 ingresos hospitalarios, siendo la especie *candida albicans* la especie más frecuentemente aislada en los hemocultivos. La comorbilidad previa más prevalente de los pacientes con candidemia es la diabetes mellitus seguida de la insuficiencia cardiaca crónica e insuficiencia renal crónica.

Hemos visto que la tasa de mortalidad de a los 30 días del diagnóstico es de 38,9%, presentando mayor mortalidad los pacientes de mayor edad, los que precisaron ventilación mecánica durante más de 48 horas y aquéllos cuyo recuento linfocitario era persistentemente menor. Un conteo de linfocitos al día del diagnóstico $<0,703 \times 10^9$ células/L es el factor más fuertemente asociado con la mortalidad al mes del diagnóstico.

VI.1 Características de los pacientes con candidemia

Al revisar los diferentes estudios sobre candidemia hemos observado las características demográficas y comorbilidad de estos pacientes. En la mayoría de los trabajos más de la mitad de los participantes son varones (aprox. 58%) y la edad media de éstos es de 60 a 65 años (17, 64, 174) . Respecto a la comorbilidad, una de las enfermedades más comunes es la diabetes mellitus, presente en el 25% de los pacientes con candidemia de la mayoría de los trabajos revisados, y en algunos se ha determinado esta enfermedad como factor de riesgo de contraer infecciones fúngicas (20, 135, 138). La insuficiencia renal crónica y cardiaca crónica también se encuentran entre las patologías más comunes, sin embargo, su frecuencia es variable en los diferentes trabajos revisados (9, 64, 175).

Nuestra cohorte de estudio tuvo unas características demográficas y enfermedades subyacentes similares a lo descrito en la literatura. La población fue mayoritariamente masculina (59%) y tuvo una edad media de 63 años. La patología más frecuente fue diabetes mellitus, seguida por la insuficiencia cardiaca crónica, insuficiencia renal, EPOC y cirrosis. Sin embargo, una de las enfermedades que es muy frecuente en los pacientes con candidemia es la neutropenia o situación de inmunodepresión (VIH, neoplasia

hematológica, tratamiento inmunosupresor...), lo cual en nuestro trabajo fueron criterios de exclusión para evitar variables de confusión (9, 17, 43, 134).

VI.2 Incidencia de candidemia

La candidemia es una infección que se desarrolla fundamentalmente en el ámbito hospitalario, siendo su incidencia mayor en las unidades de cuidados críticos. Nosotros observamos una incidencia de candidemia anual de 1,15 casos por cada 1000 ingresos similar a la descrita por Puig Asensio *et al.* (17) en el estudio español CADIPOP del año 2014, con datos procedentes de veintinueve hospitales españoles, (0,89 casos por 1000 ingresos) y Bassetti *et al.* en 2013 (50), con datos procedentes de tres hospitales de Italia y 2 hospitales de Barcelona en España de enero de 2008 a diciembre de 2010, (1,55 casos por 1000 ingresos) (17, 50).

Si comparamos nuestra situación con la europea, nos encontramos en desventaja, ya que en Dinamarca en 2018 Lausch *et al.* describe una incidencia de 0,38 casos por 1000 ingresos (43), en Bélgica Trouvé *et al.* en 2017 refieren 0,44 casos de candidemia por 1000 ingresos (176) y Tortorano *et al.* en 2006, a partir de un estudio multicéntrico realizado en Europa que incluía la gran encuesta prospectiva realizada por la Confederación Europea de Micología Médica, obtuvo una incidencia de 0,20-0,38 casos por 1000 ingresos (154).

En comparación con EEUU y Canadá nuestra incidencia es mayor, Zilberberg *et al.* describió una incidencia de 0,28-0,57 casos por 1000 hospitalizaciones en EEUU (15, 59). Jia X *et al.* también observó una incidencia de candidemia anual en China menor que la española, con 0,32 casos por cada 1000 ingresos hospitalarios (177).

Todo esto puede explicarse por la variabilidad entre los países por diferencias en las características de los pacientes que se incluyen en los diferentes estudios, como la edad y comorbilidad, diferencias en los métodos diagnósticos y de codificación de los casos de candidemia y del total de los ingresos hospitalarios. Por otra parte, los diversos protocolos y prácticas médicas en los distintos países y continentes pueden afectar no sólo a la incidencia de la candidemia sino también a la especie *candida* que la provoque.

La *Candida albicans* fue la especie más frecuentemente encontrada en los cultivos de nuestro estudio (60,4%), seguida de *Candida parapsilosis* (13,5%), *C. glabrata* (12,5%), *C. tropicalis* (9,8%) y *C. lusitaniae* (4,1%). Resultados similares obtienen otros autores en sus investigaciones de tipo multicéntrico, realizadas con pacientes procedentes de hospitales españoles (17, 52). En Estados Unidos la situación es similar, la especie predominante es *C. albicans* pero con un protagonismo menor frente al que tenía hace una década, ya que se han detectado con más frecuencia hemocultivos positivos al resto de estas especies *Candida*. Esto puede explicarse por la indicación de antifúngicos de manera empírica cuando realmente no son necesarios, por el incremento de dispositivos como catéteres de vía central para nutrición parenteral en pacientes que ya han recibido previamente azoles, ya que se predispone al crecimiento de especies *Candida* no *albicans* como *C. parapsilosis*. También es importante remarcar que no se aislaron otras especies como *Candida auris*, la cual fue descubierta en Japón en 2009 y que en los últimos años su aislamiento en hemocultivos ha ido en aumento, sobre todo en las unidades de cuidados intensivos. Es un tipo de *Candida* con numerosas resistencias a los antifúngicos y por ello su aislamiento se ha convertido en una alerta sanitaria (178).

VI.3 Tasa de mortalidad

En nuestro trabajo, la mortalidad de los pacientes con candidemia fue del 38,9%, similar a lo descrito por otros investigadores como Rodríguez-Hernández *et al.* quien en un estudio multicéntrico en 16 hospitales andaluces incluyó todos los episodios de candidemia en pacientes adultos atendidos entre octubre 2005 y septiembre 2006 y obtuvo una mortalidad a los 30 días del diagnóstico del 40% (64).

En Europa encontramos tasas de mortalidad candidemia equiparables a la nuestra, así Asmundsdottir *et al.* en su trabajo de 14 hospitales de Islandia de enero del año 2000 a diciembre de 2011 determinó una mortalidad del 30% (48), Tortorano *et al.*, basándose en el estudio multicéntrico de la Confederación Europea de Micología Médica que incluye 2.089 casos obtenidos en siete países europeos, establece la tasa de mortalidad de candidemia en 38% (154).

En EEUU Horn *et al.* en su trabajo de 2.019 pacientes con candidemia, obtuvo una mortalidad de 35,2% (149). y Gudlaugsson *et al.* describe una tasa de mortalidad

atribuible a esta infección del 38% (179). En Australia, Keighley *et al.* en su estudio prospectivo de 12 meses de duración de 8 hospitales relata una mortalidad de candidemia del 31% (134).

Datos de mortalidad mucho menores observaron Kato H *et al.* en Japón (27,7%) (180) lo cual se puede explicar porque en su estudio se incluyeron casos de candidemias adquiridas en la comunidad causadas fundamentalmente con especies *candida albicans* o *parapsilosis* no resistentes a tratamientos antifúngicos ya que son pacientes que no presentan dispositivos invasivos como catéteres centrales o terapias antifúngicas previas.

Hay que resaltar la tasa de mortalidad significativamente alta de candidemia en los servicios de cuidados intensivos. Tortorano *et al.* compara una mortalidad de candidemia en Europa del 56 % en UCI frente a 38% de la población total del estudio. Bougnoux *et al.* menciona tasas similares en las UCI de París (61%) (18) y Guzman *et al.* describe una tasa de mortalidad de candidemia del 87% en pacientes críticos (181) Li Chen *et al.*, en un estudio realizado en China en 2015 evaluaron la mortalidad de pacientes con candidemia, comparando los ingresados en UCI y en otros servicios. Obtuvieron una mayor mortalidad en pacientes críticos respecto al resto, 52,5% y 36,7% respectivamente. Todos los estudios atribuyen estos resultados a la gravedad de los pacientes ingresados en las unidades de cuidados intensivos y a la mayor susceptibilidad de éstos (181, 182).

Son varios los autores que han determinado diferentes tasas de mortalidad por candidemia según la especie *candida* que la cause. Así Horn *et al.* ha observado un aumento de mortalidad en los pacientes que sufrían candidemia por especies *no albicans* como *c. glabrata* o *krusei* (52%) las cuales presentan mayor capacidad invasora y mayor resistencia a los tratamientos antifúngicos(149), sin embargo, los pacientes infectados por *candida parapsilosis* presentaron mayor tasa de supervivencia lo cual ha sido dato que ha sido evidenciado también en otros estudios con el de Kato *et al.*(180). En nuestro estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas frente a la mortalidad a los 30 días entre las diferentes especies de *candida*.

VI.4 Factores relacionados con la mortalidad

Dada la elevada mortalidad de candidemia son muchos los trabajos que han estudiado los factores de riesgo de mortalidad por esta infección, con el objetivo de detectarlos y poder evitarlos y así mejorar los resultados de supervivencia de los pacientes que la sufren.

Cirugía

En nuestro trabajo, de todos los pacientes fallecidos el 47% habían sufrido una cirugía, sin embargo, este dato no obtuvo significación estadística, es decir, según nuestros hallazgos no obtuvimos asociación entre cirugía previa y mortalidad a los 30 días del diagnóstico de candidemia. Este resultado se correlaciona con lo descrito por otros autores como Lausch *et al.*, Puig-Asensio *et al.*, Jia *et al.*, (43, 49, 177) cuyas cohortes fueron pacientes con candidemia de todos los departamentos hospitalarios y Papadimitriou-Olivgeris *et al.* cuya población de referencia fueron los pacientes críticos (140). Guimares *et al.* tampoco encontró asociación entre haber sufrido cirugía previa y mortalidad a los 30 días de candidemia en pacientes de edad avanzada (>60 años) (183) y Keighley *et al.* concluyó que no haber sufrido una cirugía reciente en el mismo ingreso que el diagnóstico de candidemia es un factor de riesgo de mortalidad y lo incorporó como variable en un modelo de predicción de mortalidad a los 30 días. (134).

SOFA y APACHE

La escala SOFA y APACHE son dos sistemas de puntuación utilizados en la determinación del riesgo de mortalidad de los pacientes ingresados. Diversos son los trabajos que al evaluar los pacientes críticos con candidemia han observado que, si éstos presentan una puntuación de la escala SOFA mayor a 6 (180) tienen mayor riesgo de morir a los 30 días del diagnóstico (140, 184). Una elevada puntuación en la escala APACHE II ha sido descrita como factor de riesgo de mortalidad por candidemia por diferentes autores como Guimares *et al.* o Garnacho-Montero *et al.* En nuestro trabajo no hemos podido evaluar ninguna de las dos escalas pronósticas ya que nuestra cohorte estaba formada por todos los pacientes con candidemia de todas las unidades de hospitalización, no sólo por las UCI que es donde se utilizan de manera sistemática y pueden ser evaluadas correctamente. (132, 174, 182, 183).

✚ Shock séptico

El shock séptico es una de las principales causas de muerte en las unidades de cuidados intensivos, con tasas de mortalidad hospitalaria de entre 30 y 50% (36). La especie *candida* es la causa más frecuente, dentro de las infecciones fúngicas, que provoca sepsis o shock séptico describiéndose una frecuencia de 8 al 30% y de 23 al 38%, respectivamente (14, 185). Se han descrito tasas de mortalidad de hasta el 60% en pacientes con shock séptico inducido por *candida* por tanto, muy superior a la del -shock séptico bacteriano (181). Papadimitriou-Olivgeris *et al.* describen que los pacientes con shock séptico por candidemia tenían más probabilidad de morir (140). Guillamet *et al.* en su estudio sobre el desarrollo y validación de una regla de predicción clínica para la candidemia en pacientes hospitalizados con sepsis y shock séptico, obtienen una mortalidad atribuible al shock séptico provocado por candidemia del 47% frente al 24% de los pacientes que sufrían shock séptico por infección bacteriana (186). Este hecho es atribuido por Guzman *et al.* al retraso en el diagnóstico y tratamiento antifúngico como consecuencia de la inmunosupresión que padecen estos pacientes que hace que los marcadores bioquímicos no alerten a los clínicos de la posible infección por *candida*.

En nuestro trabajo, en el análisis univariante se observó una asociación entre la disfunción orgánica de los pacientes con candidemia y la mortalidad a los 30 días del diagnóstico. Sin embargo, esta asociación no se comprobó en el análisis multivariante, por lo que podemos decir que un gran porcentaje de los pacientes no supervivientes presentaban shock séptico, pero sin ser estadísticamente significativo este dato.

En otros trabajos como el de Almirante B *et al.* detectaron como factor de riesgo de mortalidad a los 30 días de candidemia presentar shock séptico con un coeficiente de 2,1 RR (IC 95% 1,3-3,4) (153). Puig-Asensio M *et al.* presentó también un índice de riesgo de mortalidad para el shock séptico de 1.77 OR (IC 95% 1.05–3.00, p=0.034) en su estudio español CANDIPOP (17). Sbrana *et al.* en su trabajo italiano en 2018 de 250 casos de candidemia, destacó como factores independientes de mortalidad a los 30 días la presencia de insuficiencia renal crónica (2,3 OR IC95% 1.07–5.12, p = 0.036) y de shock séptico (2,9 OR, IC 95% 1.62–5.35, p ≤ 0.001) (175).

CVC y NPT

La presencia de catéter de vía central se ha descrito numerosas veces como factor de riesgo de mortalidad en pacientes con candidemia. Algunos autores lo relacionan, no sólo con la mortalidad sino con la probabilidad de adquisición de esta infección fúngica. Ma *et al.* en el proyecto de investigación en un hospital terciario de China de 2009 a 2011, obtuvieron como factor independiente de mortalidad únicamente, portar catéter de vía central en el análisis multivariante (45). Otros, como Eggiman *et al.* Kibber *et al.* y Almirante B *et al.* describen como factor de protección la retirada temprana del catéter central en pacientes con candidemia (0,2 OR, IC95% 0.08-0.8, p=0,04)(153, 187, 188).

Una de las indicaciones de inserción de una vía venosa central es la necesidad de administrar nutriciones parenterales de alta osmolaridad. La NPT se ha relacionado con aumento de probabilidad de sufrir candidemia (variable incluida en la escala de Ostrosky-Zeichner y Candida Score) quizás entre otros motivos por la utilización de soluciones glucosadas que facilitan el crecimiento de algunas especies *candida* como *c. parapsilpsis*. Esta especie de *candida* es más frecuente en niños, neonatos e ingresados en UCI los cuales portan CVC y necesitan de nutrición parenteral. Esta especie tiene mayor capacidad invasora que *c. albicans* y, por tanto, los pacientes que la presentan tienen mayor riesgo de mortalidad (33, 35, 40, 41). Nosotros, sin embargo, no observamos diferencias significativas entre vivos y muertos de los pacientes con NPT.

Candida Score

Esta escala de predicción de infección fúngica está compuesta por 4 variables las cuales presentan un índice de relación con infección fúngica: nutrición parenteral, cirugía previa, sepsis/shock séptico y multicolonización fúngica. De estas cuatro variables sólo hemos evaluado de manera independiente el shock séptico, nutrición parenteral y cirugía previa y hemos querido, a pesar de que esta escala se realizó con fines de determinar la probabilidad de presentar infección fúngica, determinar si su valor podía asociarse a una mayor mortalidad a los 30 días, ya que un resultado de Candida Score superior a 2 establece muchas veces el inicio de la terapia antifúngica temprana lo cual está relacionado con una menor mortalidad (106, 107, 140, 153, 180). En el análisis univariante se observó que presentar un valor de Candida Score mayor de 2 aumentaba la

mortalidad a los 30 días por candidemia, sin embargo, no se ratificó en el análisis multivariante. Otros autores sin embargo si lograron comprobar esta asociación. Juneja *et al.* en su trabajo de 18 meses de 56 pacientes con candidemia observó que presentar un Candida Score superior o igual a tres aumenta el riesgo de mortalidad por esta infección (OR =13,2 IC 95% 1,3-125 p=0,028) (189).

La posible explicación a nuestro resultado es que la escala Candida Score se relaciona con la mortalidad a los 30 días del diagnóstico de candidemia porque indica de manera indirecta su existencia y el inicio del tratamiento precoz, pero no sólo es importante que éste sea temprano, sino que sea adecuado en el tipo de antifúngico, en sus dosis y su duración. Una incorrecta administración del tratamiento antifúngico se ha demostrado que empeora los resultados de supervivencia de candidemia. Garnacho-Montero *et al.* obtuvo como factores protectores de mortalidad la terapia antifúngica precoz si se administra de manera adecuada, con un índice de 0,4 OR (IC 95% 0.23–0.83;p=0.012) y encontró una disminución de la mortalidad de un 17,7% en las primeras 48 horas (132, 190).

Kato *et al.* y Papadimitriou-Olivgeris *et al.* describen que los pacientes con shock séptico por candidemia a los que se les administraron antifúngicos correctos, presentaban mayor tasa de supervivencia (140, 153, 180). Cuervo *et al.*, demostró que ciertas medidas, como el tratamiento temprano y la elección adecuada de antimicóticos, tienen un fuerte impacto en el pronóstico (42). Labelle *et al.* en su trabajo sobre los factores de riesgo relacionados con el tratamiento para la mortalidad hospitalaria en las infecciones del torrente sanguíneo por *candida*, insistieron en la importancia de la correcta dosificación de la terapia antifúngica exponiendo que la dosificación inicial inadecuada de fluconazol presenta un coeficiente de riesgo de mortalidad de 9,22 OR (IC 95%, 2.15-19.79; p = 0.004) (191).

Tratamiento antifúngico

En nuestro trabajo no observamos relación entre el tratamiento con equinocandinas y mortalidad a los 30 días del diagnóstico. Este hallazgo es consistente con algunos estudios como los realizados por nuestro equipo de investigación (Poves *et al.*) en los que no se observaron diferencias en la mortalidad de los pacientes con candidemia tratados con equinocandinas y los azoles. Además, se demostró que la profilaxis antimicótica o el

tratamiento específico pueden no ser suficientes (40, 41). Keighley *et al.* no observaron diferencias significativas entre pacientes tratados inicialmente con equinocandinas o con azoles (134). Chapman *et al.* tampoco describieron diferencias en la mortalidad de ambos grupos de tratamiento (23). Parkins *et al.* en un estudio en 2007 de 207 pacientes con candidiasis invasiva, describió que el tratamiento empírico realizado sólo fue efectivo en el 26% de los casos (22). En contraposición a todo lo anterior descrito, Papadimitriou-Olivgeri *et al.* consideran el tratamiento profiláctico con azoles efectivo para prevenir candidemias por *candida albicans* y *no albicans* y rechazan la profilaxis con equinocandinas, ya que observaron que predispone a candidemias por especies *no albicans* (140).

Edad avanzada.

La infección sanguínea candidemia es una de las causas importantes de hospitalización y de mortalidad de las personas mayores de 65 años (192). Esto es debido a que los pacientes de edad avanzada presentan cambios anatómicos, fisiológicos, y lo más importante, inmunológicos de envejecimiento (inmunosenescencia). Esta alteración inmunológica consiste en el aumento de los linfocitos T inmaduros, una alteración del cociente de linfocitos CD4+ Y CD8+ y un descenso en la respuesta de éstos y aumento de la apoptosis. Por otra parte, estos pacientes tienen mayor comorbilidad cardiovascular, renal, pulmonar y neurológica. Estos procesos de envejecimiento llevan a un aumento en la susceptibilidad de infecciones y a desarrollar cuadros de mayor gravedad (193)

En nuestro trabajo observamos que la edad se asociaba de forma independiente con un aumento de mortalidad tanto en el primer día del diagnóstico de candidemia (OR 1,49 IC95% 1,02-1,08 $p \leq 0,001$) como al quinto día de éste (OR 1,05 IC95% 1,01-1,08 $p = 0,012$) El estudio CANDIPOP, al igual que nosotros, observó que los pacientes con candidemia que presentaran mayor edad tienen un riesgo aumentado de exitus (OR 1,01 IC95% 1,01-1,04, $p \leq 0,001$)(17). Otros trabajos también han relacionado la edad con la mortalidad. (10, 57, 183, 194, 195). Keighley *et al.* incorporaron la edad por encima de los 65 años en su modelo predictivo de riesgo de mortalidad por candidemia asignando a esta variable el mayor coeficiente de su escala (134) (tabla 20).

Tabla 20. Modelo de predicción de mortalidad a los 30 días. Adaptación de Keighley et al

	COEFICIENTE	ES	OR	IC 95%	SCORE
Edad >65 años	1,4	0,5	3,8	1,6-1,0	1,5
UCI al diagnóstico	0,9	0,5	2,5	1,0-6,4	1
No cirugía previa	1,0	0,5	2,6	1,0-6,9	1
Neoplasia hematológica	1,0	0,6	2,8	0,85-9,4	1
Disfunción orgánica	1,0	0,5	2,7	1,1-6,6	1
Fuente gastrointestinal o no identificada	0,9	0,4	2,5	1,1-6,1	1
Antibióterapia ≥ 10 días	1,0	0,5	2,6	1,0-6,7	1

Abreviaturas: ES, error estándar; OR, Odds ratio; IC, intervalo de confianza.

Ventilación mecánica prolongada

La ventilación mecánica prolongada es una terapia que se realiza fundamentalmente en unidades de cuidados intensivos. Es considerada factor de riesgo de padecer candidemia y es una de las variables incluidas en la escala de Ostrosky-Zeichner (21, 137). También predispone a sufrir otro tipo de infecciones como neumonía. Ésta última, ha sido ampliamente estudiada observando que en los pacientes que la padecen, la VMP actúa también como factor de riesgo de mortalidad. Tamayo *et al.* determinaron que la ventilación mecánica es el factor de riesgo de mortalidad más importante en pacientes con neumonía tras haber sufrido una cirugía cardíaca, presentando un porcentaje de mortalidad hospitalaria del 49% frente al 2% de los que no necesitaron esta terapia (166, 196).

En nuestro trabajo observamos que los pacientes que habían recibido tratamiento invasivo con ventilación mecánica de manera prolongada, es decir, más de 48 horas, presentaron mayor mortalidad a los 30 días que los pacientes supervivientes con una

$p < 0,001$ en el multivariante. El 56.5% de los pacientes con candidemia que sufrieron VMP fallecieron, presentando éstos tres veces más riesgo el primer día del diagnóstico (OR 3,07 1,44-6,51 IC 95% $p = 0,004$) y cuatro veces más riesgo de morir que los pacientes que no necesitaron esta terapia invasiva en el quinto día del diagnóstico (OR 3,98 1,77-8,95 IC 95%). Esto es consistente con lo ya descrito en la literatura. Según el estudio español realizado por Almirante *et al.* los pacientes con esta infección y que habían permanecido intubados durante su ingreso, presentaban 2,4 veces más riesgo de mortalidad a los 30 días (OR 2,4 IC95% 1,5-3,9 $p < 0,01$) (8, 153). Motta *et al.* en su trabajo sobre factores de riesgo de mortalidad por candidemia en niños hospitalizados, observaron que la terapia de sustitución renal y la ventilación mecánica no sólo aumenta el riesgo de padecer candidemia, sino que, a aquéllos que la sufran tienen mayor riesgo de morir ($p < 0,02$ y $< 0,03$ respectivamente)(197).

Recuento de linfocitos.

Nuestro trabajo tenía como principal objetivo estudiar la mortalidad a los 30 días de los pacientes con candidemia en un hospital terciario y valorar su relación con recuento de linfocitos de estos pacientes. Se recogieron los datos del número de linfocitos que presentaban los pacientes el día del diagnóstico, designado día 1, y los sucesivos días hasta el quinto día y se observó que a menor recuento de linfocitos en los 5 días recogidos mayor riesgo de muerte a los 30 días del diagnóstico.

A día 1 o día del diagnóstico de candidemia, la regresión logística multivariable reveló que la linfopenia, definida linfopenia como un recuento de linfocitos menor de 1000 células/mm³ en sangre, es el factor de riesgo más importante de mortalidad. Aquellos pacientes que en su análisis sanguíneo en el momento del diagnóstico tuvieron menos de 703 linfocitos/mm³ de sangre, presentaron 5 veces más riesgo de fallecer que aquéllos cuyo contaje celular era mayor (OR 5,01 IC95% 2.29–10.93 $p < 0,002$). Al quinto día del diagnóstico, nuestro estudio mostró que los pacientes con candidemia y un recuento de linfocitos inferior a 1272 por mm³ de sangre presentaban mayor tasa de éxitus, multiplicando por 3 esta posibilidad (OR 3,27 IC95% 1.24–8.62 $p < 0,016$).

Por tanto, no podemos hablar de que la linfopenia en los 5 primeros días aumente la mortalidad, pero sí que podemos exponer, a partir de nuestro trabajo, que los pacientes que presenten contajes de linfocitos más bajos de manera persistente, presentarán un

mayor riesgo de mortalidad a los 30 días del diagnóstico de candidemia con $p < 0,05$. Además, hemos establecido unos puntos de corte de recuento linfocitario que ayudan a evaluar el pronóstico de los pacientes afectados con candidemia.

La importancia del recuento linfocitario ha sido descrita en otros trabajos sobre infecciones bacterianas. Warny *et al.* desarrolló un trabajo prospectivo sobre la linfopenia y el riesgo de muerte atribuible al desarrollo de infecciones en 98.344 pacientes en Dinamarca de 2003 a 2013. Obtuvo que los pacientes que presentaban menos de $1,1 \times 10^9$ linfocitos/L tenían más probabilidad de desarrollar infecciones como neumonía (OR 1,31, IC 95% 1,14-1,52, $p < 0,05$), infecciones dérmicas (OR 1,44 IC 95% 1,15-1,79 $p < 0,05$), infecciones del tracto urinario (OR 1,26, IC 95% 1,02-1,56, $p < 0,05$), sepsis (1,51 OR, IC 95% 1,21-1,89, $p < 0,05$) y endocarditis (OR 2,15, IC 95% 1,16-4,24, $p < 0,05$). Por otra parte, también determinó que el conteo linfocitario bajo, menor a $1,1 \times 10^9$ cél/L, aumenta el riesgo de morir por 1,7 veces (OR 1,7, IC 95% 1,37-2,10, $p < 0,05$), siendo aún mayor en pacientes mayores de 80 años y que tenga un conteo menos de $0,5 \times 10^9$ cél/L (198).

La infección por excelencia donde los linfocitos adquieren el mayor protagonismo es la provocada por el virus VIH. El virus de la inmunodeficiencia humana infecta primordialmente a los linfocitos T memoria CD4+, provocando la muerte de las células infectadas y pudiendo inducir linfopenia en un periodo de tiempo que depende de cada individuo. El conteo de linfocitos es fundamental para indicar en qué fase se encuentra esta infección y para señalar qué pacientes son subsidiarios de terapia antibiótica profiláctica por alto riesgo de infecciones oportunistas. Por otra parte, desde el inicio del tratamiento anti-retroviral, el recuento linfocitario sirve para observar la respuesta que tiene cada paciente ante esta inmunoterapia (199) en la infección por VIH y la enfermedad provocada por este virus llamada SIDA, el recuento linfocitario nos dará el pronóstico, la indicación de terapia profiláctica y el riesgo de mortalidad del paciente (199, 200).

Una de las enfermedades infecciosas más estudiadas en relación con la linfopenia es la neumonía. Ceccato *et al.* realizó un proyecto de investigación prospectivo de cohortes evaluando a los pacientes diagnosticados de neumonía en unidades de cuidados intensivos y determinó que los individuos con neumonía en UCI que posean un recuento linfocitario inferior a $0,595 \times 10^9$ cél/L presentaban mayor riesgo de éxitus a los 90 días. Este mismo grupo de investigación ya habían determinado $0,724 \times 10^9$ cél/L como punto de corte de linfocitos en pacientes con neumonía comunitaria por debajo del cual la probabilidad de

morir a los 30 días se multiplicaba casi por dos (OR 1,93 IC 95% 1,06–3,51 $p < 0,05$) (25, 164).

Diversos investigadores han centrado sus trabajos en la asociación de linfopenia y mortalidad por sepsis/shock séptico (26, 28, 104, 201, 202). Drewry *et al.* demostró que el recuento absoluto de linfocitos al cuarto día del diagnóstico de sepsis se asocia independientemente con la supervivencia a los 28 días, y la linfopenia persistente grave (definida como un recuento absoluto de linfocitos $\leq 0,6 \times 10^9$ células / L al cuarto día después del diagnóstico de sepsis) se asocia con un aumento de la probabilidad de adquisición de infecciones secundarias ($p < 0,05$) (101).

Este estado de inmunodepresión que supone la linfopenia es importante no sólo en el desarrollo de infecciones y de shock séptico sino también en presencia de neoplasias y de cirugías intestinales. Saroha *et al.* determinó que los pacientes con carcinoma renal de células claras que presenten un contaje de linfocitos menor a 1300 células/mm³ tienen menor probabilidad de sobrevivir independientemente de su estadiaje (TNM), de su edad, de su adicción tabáquica y otras comorbilidades (203).

Vulliamy *et al.* llevó a cabo una revisión sobre ingresos en la unidad quirúrgica de cuidados intensivos de un hospital terciario de Londres de 2002 a 2013. Participaron 173 pacientes, los cuales habían sufrido cirugía abdominal de carácter urgente. De todos ellos, 135 desarrollaron linfopenia en algún momento de su ingreso en la unidad. Se comparó el recuento linfocitario de los supervivientes y los fallecidos desde el día 2 del ingreso hasta el séptimo día y concluyeron con la afirmación de que aquellos pacientes que durante los primeros 7 días del ingreso no recuperan un contaje linfocitario dentro de los parámetros normales, presentan mayor riesgo de mortalidad, multiplicándose esta tasa por tres veces y media (OR 3,5 IC 95% 1,69-7,31 $p < 0,01$). (204). Por tanto, determinó que el estado de linfopenia perioperatoria se asocia de manera independiente a mortalidad a 30 días en pacientes sometidos a cirugía intestinal, pudiendo el recuento linfocitario identificar los pacientes de mayor riesgo de desarrollar complicaciones, entre ellas peritonitis (205).

La relación entre el sistema inmune y la candidemia ha sido descrita por diversos autores. Como respuesta a la infección por *candida*, se observa una fase proinflamatoria inicial, seguida de un período antiinflamatorio que da como resultado un período

prolongado de la etapa inmunosupresora llamada inmunosupresión post-agresiva protagonizada por la apoptosis linfocitaria.

Las células presentadoras de antígeno reconocen diferentes partes específicas de la especie fúngica y provocarán una liberación de citoquinas. Dependiendo de qué citoquinas se liberan se conseguirá la diferenciación de linfocitos auxiliares Th1, Th2 y Th17 y Treg. Las citoquinas IL-12, IL-1, IL-6, IL-8, TNF, IL-7 e IL-17 generan respuestas proinflamatorias (Th1 y Th17) y la citoquina IL-2 e IL-4 generan respuestas antiinflamatorias como Th2 y Treg. La diferenciación de linfocitos a Th2 conduce a la supresión de la respuesta inmune por diferentes procesos en los que participan los linfocitos T reguladores como la liberación de especies reactivas de oxígeno y la expresión de la proteína PD-1 por parte de los linfocitos (99, 206) provocando finalmente la apoptosis linfocitaria. La desventaja de estas células reguladoras se ha estudiado en diferentes informes científicos, en el que se han demostrado tanto una actividad de supresión inmune contra *C. albicans* y una mayor predisposición a la candidemia (77, 207).

Ahmadí *et al.* en su trabajo sobre candidemia y los tumores de mama en ratones, observó que la candidemia condujo a un aumento de la población Treg en el microambiente tumoral, provocando una alteración en la producción de citocinas generando un ambiente inmunodeprimido y, por lo tanto, facilitaría el crecimiento tumoral. Por tanto, la apoptosis que pueden sufrir los linfocitos secundaria a la respuesta inmune generada tras la infección por *Candida* se correlaciona con malos resultados (28).

Toth *et al.* realizaron un estudio con ratones infectados con dos tipos de especies *Candida*, como *C. albicans* y *C. parapsilosis*. Al valorar la reacción inflamatoria de un grupo y otro observaron que en los ratones con candidemia por *C. albicans*, está era reconocida mediante el receptor dectina-1, el cual aumentaba y se liberaba IL-17 con la consiguiente respuesta proinflamatoria Th17. Sin embargo, los ratones infectados con *C. parapsilosis*, presentaban una disminución del receptor dectina-1, con una disminución de IL-17 e IL-22 y por tanto la respuesta inmune frente a *Candida* era menos agresiva.

✚ Procalcitonina y plaquetopenia como factores de riesgo de mortalidad en candidemia.

Los niveles de procalcitonina no fueron recogidos como variable en nuestro trabajo por no ser homogénea su petición en todos los pacientes incluidos en el estudio y por tanto no pudimos valorar su relación con candidemia. La relación de diversos marcadores analíticos y la probabilidad de presentar esta infección fúngica ha sido ampliamente estudiada. Sin embargo, su capacidad de pronóstico todavía está por desarrollar.

Diversos son los estudios que han evaluado los niveles séricos de procalcitonina en el diagnóstico de candidemia (208, 209). Charles *et al.* y Cortegiani *et al.* concluyeron que PCT podría representar una herramienta de diagnóstico útil para excluir la detección de especies *candida* por hemocultivo en pacientes sépticos, ya que, observaron que los niveles de procalcitonina son más bajos en pacientes con candidemia que con bacteriemia (210-212).

Pieralli *et al.* y Giacobbe *et al.* estudiaron los niveles de PTC en pacientes con candidemia y bacteriemia y lo asociaron con el 1-3 beta D glucano (BCG) que es un marcador de la especie fúngica para su diagnóstico. Concluyeron que, cuando ambos marcadores indicaban candidemia (BCG ≥ 80 pg/ml y PTC 2 ng/ml) el valor predictivo positivo y negativo de estos parámetros aumentaban (213-215).

Con respecto a la capacidad pronóstica de la procalcitonina en sangre de los pacientes con candidemia, Jia X *et al.* estudiaron los niveles de procalcitonina en pacientes sépticos por esta infección y concluyeron que los niveles de procalcitonina elevados (1,66 ng/ml vs 4,96 ng/ml) se asociaban con un aumento de mortalidad a los 30 días ($p < 0,005$). Estos autores también evaluaron el papel de las plaquetas en los pacientes con candidemia y determinaron que los pacientes que presentan niveles de plaquetas bajos (70.500 plaquetas/L vs 189.000 plaquetas/L) tienen mayor riesgo de mortalidad ($p < 0,003$). Este hecho sugiere que las plaquetas pueden tener efectos beneficiosos en la respuesta inflamatoria frente a la infección fúngica (177).

VI.5 Limitaciones del estudio

La principal limitación de nuestro estudio es su diseño, ya que es un estudio observacional retrospectivo, no experimental. Los datos han provenído de un solo centro, por lo que puede suceder se esté sobreestimando o infraestimando la incidencia real de candidemia, entre otros motivos por la forma de realizarse la codificación pudiendo afectar a los resultados últimos del trabajo. Sería preciso la validación de este estudio en otro centro o mediante la realización de un trabajo a nivel multicéntrico. Otra limitación del trabajo que impide un conocimiento a fondo de la mortalidad por candidemia es la ausencia de registro del momento de comienzo del antifúngico desde el diagnóstico de candidemia, la duración del tratamiento y las resistencias desarrolladas a ellos.

Por tanto, en nuestra opinión, sería conveniente realizar este estudio, de manera más completa, en más centros para así comparar los resultados y poder llevar a cabo la validación del recuento de linfocitos como factor de riesgo de mortalidad en pacientes con candidemia y su posterior uso en el tratamiento correcto de esta infección.

VI.6 Aplicación de los resultados y futuros estudios

La determinación del valor de linfocitos en sangre periférica de los pacientes graves puede ayudarnos a conocer el pronóstico de los pacientes que padecen candidemia y así poder prestar una mayor atención a aquéllos que tengan linfopenia o que presenten valores persistentemente bajos de linfocitos para así tratar de aumentar la probabilidad de supervivencia o incluso buscar terapias que fortalezcan o ayuden al sistema inmunológico.

Una de las causas que provoca que la candidemia siga asociándose a una elevada mortalidad es que el tratamiento antifúngico en ocasiones no es el adecuado, bien por dosis inadecuada o por resistencias del germen hacia el fármaco. Para tratar de solucionar este problema se están llevando estudios que tienen una perspectiva diferente, tienen como objetivo el tratamiento de la infección fúngica mediante la inmunoterapia y la recuperación de la población linfocitaria (29). Los agentes inmunoterapéuticos y vacunas pueden actuar para aumentar la producción de células T CD4 y CD8, bloquear la

apoptosis de linfocitos y prevenir la fatiga de las células T, lo cual ha sido ya propuesto como adyuvante en el tratamiento de la sepsis y el shock séptico (155, 158).

Venet *et al.* en un estudio con ratones con sepsis, observó que el aumento del porcentaje de Treg circulante se correlacionó significativamente con una disminución de la respuesta linfoproliferativa y la regulación a la baja de proteínas como Foxp3, las cuales están implicadas en la respuesta inflamatoria(216). Zhang *et al.* presentó que el bloqueo de la proteína PD-1 de manera experimental inhibe la apoptosis linfocitaria y la disfunción de los monocitos en ratones con sepsis mejorando los resultados de supervivencia(99).

Levy *et al.* y Sereti *et al.* observaron que la administración de IL-7 a personas infectadas con el virus del VIH aumentaba sus niveles de linfocitos T (100). Usinger *et al.* realizó un estudio similar en el que en ratones con infección por *candida* se determinó que la IL-7 provocaba un aumento del número y mejora de las funciones linfocitarias (activación, expresión de moléculas de adhesión y la producción de interferón gamma) y por tanto de la supervivencia (30, 93). La IL-17 ha sido también objeto de estudio como parte de la inmunoterapia frente a infección fúngica. Esta interleucina juega un papel de protección frente a candidemia en ratones y en humanos. La disminución de su receptor o de su producción provoca por una parte que no actúen las células fagocíticas llamadas “*Natural Killer*” y que no se produzca la diferenciación de linfocitos a linfocitos auxiliares 17 (Th17), que no proliferen y por tanto que se produzca la inmunosupresión del animal o el humano (217). Gaffen *et al.* identificó la importancia primordial de la citocina IL-17 en la respuesta inmune contra *candida albicans* en 2005 y expuso que aunque no existen vacunas efectivas contra hongos, sí que se han llevado a cabo estudios experimentales contra *candida* en las que se ha demostrado el papel importante de la IL-17 en las respuestas Th1 y Th17 (6, 56). Estas últimas, han podido potenciarse con la administración por vía subcutánea de una proteína de adhesión de *candida* en ratones (218, 219).

Han *et al.* llevó a cabo un trabajo para valorar los anticuerpos en ratones frente a la candidiasis invasiva y la posible creación de vacunas frente a *candida* y lo desarrolló en candidiasis vaginal (78, 79, 161). Otros autores como Cenci *et al.* han valorado la posibilidad de administrar la terapia antifúngica sola y en combinación con inmunoterapia aplicando un antagonista de la interleucina 4, la cual está relacionada con la inducción de la respuesta Th2 y por tanto de la respuesta antiinflamatoria y supresora. Concluyó que

la combinación de ambos tratamientos potenciaba la liberación de IL-12 y la respuesta Th1(220).

Teniendo en cuenta la alta posibilidad de la incorporación de la inmunoterapia en el tratamiento habitual de la candidemia, los resultados de nuestro estudio podrían ayudar a los clínicos en la indicación de tratamiento antifúngico convencional único, inmunoterapia única o la combinación de ambos. El recuento de linfocitos de manera diaria no supondría un gasto adicional y podría indicarnos el tratamiento más adecuado para cada paciente.

Los resultados obtenidos de nuestro trabajo pueden servir también para plantearse la necesidad de un tratamiento antifúngico profiláctico con o sin inmunoterapia en aquellos pacientes graves con linfopenia, sin un diagnóstico aún de candidemia, hasta superar al menos dicha situación de inmunodepresión, ya que de desarrollar una candidemia, ésta se asociaría a una elevada mortalidad. Pero es necesario más investigación sobre este tema.

VII. CONCLUSIONES

1. La incidencia de candidemia en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid en los años de 2007 a 2016 fue de 1,15 casos por cada 1000 ingresos, similar a lo encontrado en la literatura española y es levemente más alta que la definida en Europa y EEUU.
2. La comorbilidad más frecuente de los pacientes que desarrollaban candidemia fue Diabetes mellitus seguida de la ICC y la IRC.
3. Los pacientes con candidemia ingresados en el hospital tenían una mortalidad del 38,9% a los 30 días del diagnóstico, valor que se correlaciona con lo descrito en la literatura.
4. El punto de corte óptimo de linfocitos, por debajo del cual los pacientes con candidemia morían más fue de $0,703 \times 10^9$ cels/L el primer día del diagnóstico y de $1,272 \times 10^9$ cels/L el quinto día del diagnóstico.
5. Un recuento de linfocitos en sangre menor del punto de corte establecido ($0,703 \times 10^9$ cels/L el primer día del diagnóstico y $1,272 \times 10^9$ cels/L el quinto día del diagnóstico), la ventilación mecánica prolongada y una edad avanzada se relacionaron de forma independiente con mayor probabilidad de morir durante los primeros 30 días del diagnóstico, siendo la linfopenia $< 0,703 \times 10^9$ cels/L determinada el primer día del diagnóstico, el factor más fuertemente relacionado con la mortalidad.

VIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Bruder-Nascimento A, Camargo CH, Mondelli AL, Sugizaki MF, Sadatsune T, Bagagli E. Candida species biofilm and Candida albicans ALS3 polymorphisms in clinical isolates. *Braz J Microbiol.* 2014;45(4):1371-7.
2. Arendrup MC, Sulim S, Holm A, Nielsen L, Nielsen SD, Knudsen JD, et al. Diagnostic issues, clinical characteristics, and outcomes for patients with fungemia. *J Clin Microbiol.* 2011;49(9):3300-8.
3. C. H. Ensayo de inmunoabsorción ligado a enzima (ELISA) British Society for Immunology (BSI) [Available from: <http://inmunologia.eu/tecnicas-experimentales/ensayo-de-inmunoabsorcion-ligado-enzima-elisa>.
4. Kiyoura Y, Tamai R. Innate immunity to Candida albicans. *Japanese Dental Science Review.* 2015;51(3):59-64.
5. Ono S, Tsujimoto H, Hiraki S, Aosasa S. Mechanisms of sepsis-induced immunosuppression and immunological modification therapies for sepsis. *Ann Gastroenterol Surg.* 2018;2(5):351-8.
6. Gaffen SL, Hernandez-Santos N, Peterson AC. IL-17 signaling in host defense against Candida albicans. *Immunol Res.* 2011;50(2-3):181-7.
7. Kumari V, Banerjee T, Kumar P, Pandey S, Tilak R. Emergence of non-albicans Candida among candidal vulvovaginitis cases and study of their potential virulence factors, from a tertiary care center, North India. *Indian J Pathol Microbiol.* 2013;56(2):144-7.
8. Xiao Z, Wang Q, Zhu F, An Y. Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility and mortality risk factors of candidemia among critically ill patients: a retrospective study from 2011 to 2017 in a teaching hospital in China. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2019;8:89.

9. Olaechea PM, Palomar M, Leon-Gil C, Alvarez-Lerma F, Jorda R, Nolla-Salas J, et al. Economic impact of *Candida* colonization and *Candida* infection in the critically ill patient. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004;23(4):323-30.
10. Morgan J, Meltzer MI, Plikaytis BD, Sofair AN, Huie-White S, Wilcox S, et al. Excess mortality, hospital stay, and cost due to candidemia: a case-control study using data from population-based candidemia surveillance. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2005;26(6):540-7.
11. Ashley E. DR, Johnson M., Danna R., Dabrowski, D., Walker V., et al. Cost of invasive fungal infections in the era of new diagnostics and expanded treatment options. *Pharmacotherapy: The Journal of human Phamacology and Drug Therapy*. 2012;32(10):890-901.
12. 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(3):309-17.
13. Blumberg HM, Jarvis WR, Soucie JM, Edwards JE, Patterson JE, Pfaller MA, et al. Risk factors for candidal bloodstream infections in surgical intensive care unit patients: the NEMIS prospective multicenter study. *The National Epidemiology of Mycosis Survey*. *Clin Infect Dis*. 2001;33(2):177-86.
14. Delaloye J, Calandra T. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. *Virulence*. 2014;5(1):161-9.
15. Zilberberg MD, Shorr AF, Kollef MH. Secular trends in candidemia-related hospitalization in the United States, 2000-2005. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29(10):978-80.
16. Asmundsdottir EH, Gottfredsson M. Increasing incidence of candidemia: results from a 20-year nationwide study in Iceland. *J Clin Microbiol*. 2002;40:3489-92.

17. Puig-Asensio M, Padilla B, Garnacho-Montero J, Zaragoza O, Aguado JM, Zaragoza R, et al. Epidemiology and predictive factors for early and late mortality in *Candida* bloodstream infections: a population-based surveillance in Spain. *Clin Microbiol Infect*. 2014;20(4):O245-54.
18. Bognoux ME, Kac G, Aegerter P, d'Enfert C, Fagon JY, CandiRea Study G. Candidemia and candiduria in critically ill patients admitted to intensive care units in France: incidence, molecular diversity, management and outcome. *Intensive Care Med*. 2008;34(2):292-9.
19. Leon C, Alvarez-Lerma F, Ruiz-Santana S, Leon MA, Nolla J, Jorda R, et al. Fungal colonization and/or infection in non-neutropenic critically ill patients: results of the EPCAN observational study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2009;28(3):233-42.
20. Leon C, Ruiz-Santana S, Saavedra P, Almirante B, Nolla-Salas J, Alvarez-Lerma F, et al. A bedside scoring system ("Candida score") for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with *Candida* colonization. *Crit Care Med*. 2006;34(3):730-7.
21. Ostrosky-Zeichner L, Kontoyiannis D, Raffalli J, Mullane KM, Vazquez J, Anaissie EJ, et al. International, open-label, noncomparative, clinical trial of micafungin alone and in combination for treatment of newly diagnosed and refractory candidemia. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005;24(10):654-61.
22. Parkins MD, Sabuda DM, Elsayed S, Laupland KB. Adequacy of empirical antifungal therapy and effect on outcome among patients with invasive *Candida* species infections. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60(3):613-8.
23. Chapman B, Slavin M, Marriott D, Halliday C, Kidd S, Arthur I, et al. Changing epidemiology of candidaemia in Australia. *J Antimicrob Chemother*. 2017;72(4):1103-8.

24. Zilberberg MD, Kollef MH, Arnold H, Labelle A, Micek ST, Kothari S, et al. Inappropriate empiric antifungal therapy for candidemia in the ICU and hospital resource utilization: a retrospective cohort study. *BMC Infect Dis.* 2010;10:150.
25. Ceccato A, Ranzani O.T, Martí-Fernández M, Almansa-Mora R, Gabarrus A, Bueno L, Liapikou A, et al. Lymphocytopenia as a predictor of mortality in patients with ICU-acquired Pneumonia. *J Clin Med.* 2019;8:843.
26. Delano MJ, Thayer T, Gabrilovich S, Kelly-Scumpia KM, Winfield RD, Scumpia PO, et al. Sepsis induces early alterations in innate immunity that impact mortality to secondary infection. *J Immunol.* 2011;186(1):195-202.
27. Le Tulzo Y, Gacouin A, Guilloux V, Tribut O, Amiot L, Tattevin P, et al. Early circulating lymphocyte apoptosis in human septic shock is associated with poor outcome. *Shock.* 2002;18(6):487-94.
28. Adrie C, Lugosi M, Sonnevile R, Souweine B, Ruckly S, Cartier JC, et al. Persistent lymphopenia is a risk factor for ICU-acquired infections and for death in ICU patients with sustained hypotension at admission. *Ann Intensive Care.* 2017;7(1):30.
29. Vonk AG, Netea MG, van der Meer JW, Kullberg BJ. Host defence against disseminated *Candida albicans* infection and implications for antifungal immunotherapy. *Expert Opin Biol Ther.* 2006;6(9):891-903.
30. Unsinger J, Burnham CA, McDonough J, Morre M, Prakash PS, Caldwell CC, et al. Interleukin-7 ameliorates immune dysfunction and improves survival in a 2-hit model of fungal sepsis. *J Infect Dis.* 2012;206(4):606-16.
31. Pujol M, Limon E. [General epidemiology of nosocomial infections. Surveillance systems and programs]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2013;31(2):108-13.

32. Friedman ND, Kaye KS, Stout JE, McGarry SA, Trivette SL, Briggs JP, et al. Health care--associated bloodstream infections in adults: a reason to change the accepted definition of community-acquired infections. *Ann Intern Med.* 2002;137(10):791-7.
33. Vincent JL, Suter PM, Bruining HA, White J, Nicolas-Chanoin MH, Wolff M, Spencer RC, et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *JAMA.* 1995;274(8):639-44.
34. Sociedad Española de Medicina Preventiva SPeH. Estudio EPINE -EPPS 2017. 2017.
35. Vaqué JR, Arribas J.L. Prevalence of nosocomial infections in Spain: EPINE study 1990-1997. EPINE Working Group. *J Hosp Infect.* 1999;43:105-11.
36. Vincent JL, Rello J, Marshall J, Silva E, Anzueto A, Martin CD, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA.* 2009;302(21):2323-9.
37. İlhami ÇELİK Nİ, AD, ES, DY, MAY. Prevalence of Hospital Acquired Infections in Anesthesiology Intensive Care Unit. *Firat Tıp Dergisi.* 2005;10(3):132-5.
38. Klevens RM, Edwards JR, Richards CL, Horan TC, Gaynes RP, Pollock DA, et al. Estimating health care-associated infections and deaths in U.S. hospitals, 2002. *Public Health Rep.* 2007;122(2):160-6.
39. Pontón J. La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafungina. *Revista Iberoamericana de Micología.* 2008;25(2):78-82.
40. Poves-Alvarez R, Cano-Hernández B, Balbás-Alvarez S, Román-García P, Heredia-Rodríguez M, Gómez-Sánchez E, et al. Antifungal treatment with echinocandins: a 10-year clinical experience. *Rev ESP Quimioter.* 2017;6:413-21.

41. Poves-Alvarez R, Cano-Hernández B, Muñoz-Moreno MF, Balbás-Alvarez S, Román-García P, Gómez-Sánchez E, et al. Impact of empirical treatment with antifungal agents on survival of patients with candidemia. *Rev Esp Quimioter.* 2019;32(1):6-14.
42. Cuervo G, Garcia-Vidal C, Puig-Asensio M, Merino P, Vena A, Martin-Pena A, et al. Usefulness of guideline recommendations for prognosis in patients with candidemia. *Med Mycol.* 2018.
43. Lausch KR, Sogaard M, Rosenvinge FS, Johansen HK, Boysen T, Roder B, et al. High incidence of candidaemia in a nationwide cohort: Underlying diseases, risk factors and mortality. *Int J Infect Dis.* 2018;76:58-63.
44. Lee RA, Zurko J, Camins BC, Griffin RL, Rodriguez JM, McCarty TP, et al. Impact of Infectious Disease Consultation on Clinical Management and Mortality in Patients with Candidemia. *Clin Infect Dis.* 2018.
45. Ma CF, Li FQ, Shi LN, Hu YA, Wang Y, Huang M, et al. Surveillance study of species distribution, antifungal susceptibility and mortality of nosocomial candidemia in a tertiary care hospital in China. *BMC Infect Dis.* 2013;13:337.
46. Kullberg BJ, Arendrup MC. Invasive Candidiasis. *N Engl J Med.* 2015;373(15):1445-56.
47. Rentz AM, Halpern MT, Bowden R. The impact of candidemia on length of hospital stay, outcome, and overall cost of illness. *Clin Infect Dis.* 1998;27(4):781-8.
48. Asmundsdottir LR, Erlendsdottir H, Gottfredsson M. Nationwide study of candidemia, antifungal use, and antifungal drug resistance in Iceland, 2000 to 2011. *J Clin Microbiol.* 2013;51(3):841-8.

49. Puig-Asensio M, Ruiz-Camps I, Fernandez-Ruiz M, Aguado JM, Munoz P, Valerio M, et al. Epidemiology and outcome of candidaemia in patients with oncological and haematological malignancies: results from a population-based surveillance in Spain. *Clin Microbiol Infect.* 2015;21(5):491 e1-10.
50. Bassetti M, Merelli M, Righi E, Diaz-Martin A, Rosello EM, Luzzati R, et al. Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility, and outcome of candidemia across five sites in Italy and Spain. *J Clin Microbiol.* 2013;51(12):4167-72.
51. Guinea J. Global trends in the distribution of *Candida* species causing candidemia. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20 Suppl 6:5-10.
52. Cisterna R, Ezpeleta G, Telleria O, Spanish Candidemia Surveillance G. Nationwide sentinel surveillance of bloodstream *Candida* infections in 40 tertiary care hospitals in Spain. *J Clin Microbiol.* 2010;48(11):4200-6.
53. Antinori S, Milazzo L, Sollima S, Galli M, Corbellino M. Candidemia and invasive candidiasis in adults: A narrative review. *Eur J Intern Med.* 2016;34:21-8.
54. Kett DH, Azoulay E, Echeverria PM, Vincent JL. Extended Prevalence of Infection in ICUSGoI. *Candida* bloodstream infections in intensive care units: analysis of the extended prevalence of infection in intensive care unit study. *Crit Care Med.* 2011;39(4):665-70.
55. Giri S, Kindo AJ. A review of *Candida* species causing blood stream infection. *Indian J Med Microbiol.* 2012;30(3):270-8.
56. Hernandez-Santos N, Gaffen SL. Th17 cells in immunity to *Candida albicans*. *Cell Host Microbe.* 2012;11(5):425-35.
57. Ramos-Martinez A, Vicente-Lopez N, Sanchez-Romero I, Padilla B, Merino-Amador P, Garnacho-Montero J, et al. Epidemiology and prognosis of candidaemia in elderly patients. *Mycoses.* 2017;60(12):808-17.

58. Galbán B MF. Epidemiology of candidemia in ICU. *Rev Iberoam Micol.* 2006;23:12-5.
59. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev.* 2007;20(1):133-63.
60. Cantón E, Pemán J. Infección sistémica nosocomial por levaduras. *Rev Iberoam Micol.* 2001;18:51-5.
61. Bassetti M, Righi E, Costa A, Fasce R, Molinari MP, Rosso R, et al. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. *BMC Infect Dis.* 2006;6:21.
62. Schelenz S GW. Candidaemia in a London teaching hospital: analysis of 128 cases over a 7-year period. *Mycoses.* 2003;46(9-10):390-6.
63. Peman J CE, Gobernado M. Epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from blood: results of a 2-year multicentre study in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2005;24(1):23-30.
64. Rodríguez-Hernández MJ, Ruiz-Perez de Pipaon M, Marquez-Solero M, Martín-Rico P, Castón-Osorio JJ, Guerrero-Sánchez FM, et al. [Candidemias: multicentre analysis in 16 hospitals in Andalusia (Spain)]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2011;29(5):328-33.
65. Gómez Quintero CH. Resistencia de levaduras del género *Candida* al fluconazol. *Infectio.* 2010;14:172-80.
66. Johnson EM. Issues in antifungal susceptibility testing. *J Antimicrob Chemother.* 2008;61 Suppl 1:i13-8.
67. Holt SL, Drew RH. Echinocandins: addressing outstanding questions surrounding treatment of invasive fungal infections. *Am J Health Syst Pharm.* 2011;68(13):1207-20.

68. R A Calderone PCB. Adherence and receptor relationships of *Candida albicans*. *Microbiol Rev.* 1991 Mar 55(1):1-20.
69. A Bailey EW, and R Calderone. Adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells: host-induced protein synthesis and signaling events. *Infect Immun.* 1995;63(2):569-72.
70. Borges S SJ, Teixeira P. The role of lactobacilli and probiotics in maintaining vaginal health. *Arch Gynecol Obstet.* 2014;289:479-89.
71. Tong Y, Tang J. *Candida albicans* infection and intestinal immunity. *Microbiol Res.* 2017;198:27-35.
72. Chaffin WL1 L-RJ, Casanova M, Gozalbo D, Martínez JP. Cell wall and secreted proteins of *Candida albicans*: identification, function, and expression. *Microbiol Mol Biol Rev.* 1998;62(1):130-80.
73. Karkowska-Kuleta J R-KMaKA. Fungi pathogenic to humans: molecular bases of virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigatus*. *Acta Biochimica Polonica.* 2009;56:211-24.
74. Eggiman P and Pittet D. Candidemia y candidiasis generalizada. *EMC- Anestesia Reanimación.* 2010;36(2):1-26.
75. Richardson JP, Moyes DL. Adaptive immune responses to *Candida albicans* infection. *Virulence.* 2015;6(4):327-37.
76. Garcia-Vidal C, Carratala J. [Pathogenesis of invasive fungal infections]. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2012;30(3):151-8.
77. Netea MG, Marodi L. Innate immune mechanisms for recognition and uptake of *Candida* species. *Trends Immunol.* 2010;31(9):346-53.

- 78.** Han Y MR, Cutler JE. A vaccine and monoclonal antibodies that enhance mouse resistance to *Candida albicans* vaginal infection. *Infect Immun.* 1998;66(12):5771-6.
- 79.** Han Y1 CJ. Antibody response that protects against disseminated candidiasis. *Infect Immun.* 1995;63(7):2714-9.
- 80.** Zhang MX, Bohlman MC, Itatani C, Burton DR, Parren PW, St Jeor SC, et al. Human recombinant antimannan immunoglobulin G1 antibody confers resistance to hematogenously disseminated candidiasis in mice. *Infect Immun.* 2006;74(1):362-9.
- 81.** Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):801-10.
- 82.** Neira-Sanchez ER MG. Sepsis-3 y las nuevas definiciones, ¿es tiempo de abandonar SIRS? . *Acta Med Peru.* 2016;33(3):217-2.
- 83.** Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis. *Virulence.* 2014;5(1):4-11.
- 84.** Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med.* 2001;29(7):1303-10.
- 85.** Esteban A, Frutos-Vivar F, Ferguson ND, Penuelas O, Lorente JA, Gordo F, et al. Sepsis incidence and outcome: contrasting the intensive care unit with the hospital ward. *Crit Care Med.* 2007;35(5):1284-9.
- 86.** Monclús Cols E, Roedberg Ramos D, Pujol Fontrodona G, Ortega Romero M. Manejo de la sepsis grave y el Shock séptico en un servicio de urgencias de un hospital urbano de tercer nivel. Oportunidades de mejora. *Emergencias.* 2016;28(4):229-34.

87. Kollef M, Micek S, Hampton N, Doherty JA, Kumar A. Septic shock attributed to *Candida* infection: importance of empiric therapy and source control. *Clin Infect Dis*. 2012;54(12):1739-46.
88. Duggan S, Leonhardt I, Hunniger K, Kurzai O. Host response to *Candida albicans* bloodstream infection and sepsis. *Virulence*. 2015;6(4):316-26.
89. Nin NLJ, Ortiz-Leyba C, Valenzuela F, Baigorri F, López Rodríguez A, et al, por la Red para el Estudio del Shock y la Sepsis (RESYS). Estudio multicéntrico sobre la asociación entre variables relacionadas con la resucitación y la mortalidad en sepsis grave. *Med Intensiva*. 2005;29:212-2018.
90. Brun-Buisson C, Pinton P, Vallet B, for the EPISEPSIS Study Group. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med*. 2004;30:580-8.
91. Azkárate I, Choperena G, Salas E, Sebastián R, Lara G, Elósegui I, et al. Epidemiology and prognostic factors in severe sepsis/septic shock. Evolution over six years. *Medicina Intensiva (English Edition)*. 2016;40(1):18-25.
92. Baker JV, Peng G, Rapkin J, Krason D, Reilly C, Cavert WP, et al. Poor initial CD4+ recovery with antiretroviral therapy prolongs immune depletion and increases risk for AIDS and non-AIDS diseases. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008;48(5):541-6.
93. Levy Y, Lacabaratz C, Weiss L, Viard JP, Goujard C, Lelievre JD, et al. Enhanced T cell recovery in HIV-1-infected adults through IL-7 treatment. *J Clin Invest*. 2009;119(4):997-1007.
94. Baker JV, Peng G, Rapkin J, Abrams DI, Silverberg MJ, MacArthur RD, et al. CD4+ count and risk of non-AIDS diseases following initial treatment for HIV infection. *AIDS*. 2008;22(7):841-8.

95. Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nat Rev Immunol.* 2013;13(12):862-74.
96. Tapia-Jurado J C-ER, Peña-Pérez JA. Bases moleculares de la sepsis. *Rev Med Hosp Gen Méx.* 2013;76(2):93-103.
97. Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, Schmiege RE, Jr., Hui JJ, Chang KC, et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4+ T lymphocytes in humans. *J Immunol.* 2001;166(11):6952-63.
98. Spec A, Shindo Y, Burnham CA, Wilson S, Ablordeppey EA, Beiter ER, et al. T cells from patients with Candida sepsis display a suppressive immunophenotype. *Crit Care.* 2016;20:15.
99. Zhang Y, Zhou Y, Lou J, Li J, Bo L, Zhu K, et al. PD-L1 blockade improves survival in experimental sepsis by inhibiting lymphocyte apoptosis and reversing monocyte dysfunction. *Crit Care.* 2010;14(6):R220.
100. Sereti I, Dunham RM, Spritzler J, Aga E, Proschan MA, Medvik K, et al. IL-7 administration drives T cell-cycle entry and expansion in HIV-1 infection. *Blood.* 2009;113(25):6304-14.
101. Drewry AM, Samra N, Skrupky LP, Fuller BM, Compton SM, Hotchkiss RS. Persistent lymphopenia after diagnosis of sepsis predicts mortality. *Shock.* 2014;42(5):383-91.
102. Cheadle WG, Robinson D, Livingston DH, Rodriguez JL, Polk HC . Lymphocyte subset responses to trauma and sepsis. *J Trauma.* 1993;35(6):844-9.
103. Inoue S, Suzuki-Utsunomiya K, Okada Y, Taira T, Iida Y, Miura N, et al. Reduction of immunocompetent T cells followed by prolonged lymphopenia in severe sepsis in the elderly. *Crit Care Med.* 2013;41(3):810-9.

104. Monserrat J, de Pablo R, Reyes E, Diaz D, Barcenilla H, Zapata MR, et al. Clinical relevance of the severe abnormalities of the T cell compartment in septic shock patients. *Crit Care*. 2009;13(1):R26.
105. Bermejo-Martin JF, Tamayo E, Ruiz G, Andaluz-Ojeda D, Herran-Monge R, Muriel-Bombin A, et al. Circulating neutrophil counts and mortality in septic shock. *Crit Care*. 2014;18(1):407.
106. Morrell M, Fraser VJ, Kollef MH. Delaying the empiric treatment of candida bloodstream infection until positive blood culture results are obtained: a potential risk factor for hospital mortality. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(9):3640-5.
107. Garey KW, Rege M, Pai MP, Mingo DE, Suda KJ, Turpin RS, et al. Time to initiation of fluconazole therapy impacts mortality in patients with candidemia: a multi-institutional study. *Clin Infect Dis*. 2006;43(1):25-31.
108. Grim SA, Berger K, Teng C, Gupta S, Layden JE, Janda WM, et al. Timing of susceptibility-based antifungal drug administration in patients with *Candida* bloodstream infection: correlation with outcomes. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(3):707-14.
109. Patel GP, Simon D, Scheetz M, Crank CW, Lodise T, Patel N. The effect of time to antifungal therapy on mortality in Candidemia associated septic shock. *Am J Ther*. 2009;16(6):508-11.
110. Cuenca-Estrella M. [Laboratory diagnosis of fungal infection diseases]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2012;30(5):257-64.
111. Aguado JM, Ruiz-Camps I, Munoz P, Mensa J, Almirante B, Vazquez L, et al. [Guidelines for the treatment of Invasive Candidiasis and other yeasts. Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC). 2010 Update]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29(5):345-61.

112. Pontón J, del Palacio A. Avances y limitaciones del diagnóstico precoz de las infecciones invasoras causadas por levaduras. *Revista Iberoamericana de Micología*. 2007;24(3):181-6.
113. Ayats J, Martín-Mazuelos E, Peman J, Quindos G, Sánchez F, García-Rodríguez J, et al. [Spanish Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (SEIMC) guidelines for the diagnosis of invasive fungal infections. 2010 update]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2011;29(1):39 e1-15.
114. Rezusta A, Gil J. Fundamentos básicos para el diagnóstico micológico. En: Pemán J, Martín-Mazuelos E, Rubio MC, editores. *Guía práctica de identificación y diagnóstico en Micología Clínica*. Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología. 2001.
115. Baron EJ, Scott JD, Tompkins LS. Prolonged incubation and extensive subculturing do not increase recovery of clinically significant microorganisms from standard automated blood cultures. *Clin Infect Dis*. 2005;41(11):1677-80.
116. Auckenthaler R ID, Washington JA. Comparison of recovery of organisms from blood cultures diluted 10% (volume/volume) and 20% (volume/volume). *J Clin Microbiol* 1982;15:860-4.
117. Llovo J, Martín-Mazuelos E, Rubio MC. *Guía práctica de identificación y diagnóstico en Micología Clínica*. 2a ed. . Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología. 2007;14. a:1-16.
118. Brown MS. The gram stain morphology of fungi, mycobacteria, and *Pneumocystis carinii*. *J Med Technol*. 1986;3:495-9.
119. Lyon R . Comparison of the BacT/Alert and Isolator blood culture systems for recovery of fungi. *Am J Clin Pathol*. 1995;103:660-2.
120. AC P. *Candida* and the paediatric lung. *Ped Resp Rev*. 2009;10:186-91.

121. Linares MJ, Martín-Mazuelos, E RM, editors. Guía práctica de identificación y diagnóstico en Micología Clínica. 2a ed Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología. 2007;11.1-.1.
122. He F, Zhong M. New method for the early clinic identification of commonly encountered *Candida* species. *Talanta*. 2010;80(3):1210-5.
123. Pincus DH, Orenga S, Chatellier S. Yeast identification--past, present, and future methods. *Med Mycol*. 2007;45(2):97-121.
124. Avni T, Leibovici L, Paul M. PCR diagnosis of invasive candidiasis: systematic review and meta-analysis. *J Clin Microbiol*. 2011;49(2):665-70.
125. Lau A, Halliday C, Chen SC, Playford EG, Stanley K, Sorrell TC. Comparison of whole blood, serum, and plasma for early detection of candidemia by multiplex-tandem PCR. *J Clin Microbiol*. 2010;48(3):811-6.
126. McMullan R, Metwally L, Coyle PV, Hedderwick S, McCloskey B, O'Neill HJ, et al. 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(6):890-6.
127. Ullmann AJ, Cornely OA, Donnelly JP, Akova M, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, et al. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: developing European guidelines in clinical microbiology and infectious diseases. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18 Suppl 7:1-8.
128. Tran T, Beal SG. Application of the 1,3-beta-D-Glucan (Fungitell) Assay in the Diagnosis of Invasive Fungal Infections. *Arch Pathol Lab Med*. 2016;140(2):181-5.

- 129.** Mikulska M, Calandra T, Sanguinetti M, Poulain D, Viscoli C, Third European Conference on Infections in Leukemia G. 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(6):R222.
- 130.** Parra-Sanchez M, Zakariya-Yousef Breval I, Castro Mendez C, Garcia-Rey S, Loza Vazquez A, Ubeda Iglesias A, et al. *Candida albicans* Germ-Tube Antibody: Evaluation of a New Automatic Assay for Diagnosing Invasive Candidiasis in ICU Patients. *Mycopathologia*. 2017;182(7-8):645-52.
- 131.** Cornely OA, Bassetti M, Calandra T, Garbino J, Kullberg BJ, Lortholary O, et al. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18 Suppl 7:19-37.
- 132.** Garnacho-Montero J, Diaz-Martin A, Canton-Bulnes L, Ramirez P, Sierra R, Arias-Verdu D, et al. Initial Antifungal Strategy Reduces Mortality in Critically Ill Patients With Candidemia: A Propensity Score-Adjusted Analysis of a Multicenter Study. *Crit Care Med*. 2018;46(3):384-93.
- 133.** Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2016;62(4):e1-50.
- 134.** Keighley C, Chen SC, Marriott D, Pope A, Chapman B, Kennedy K, et al. Candidaemia and a risk predictive model for overall mortality: a prospective multicentre study. *BMC Infect Dis*. 2019;19(1):445.
- 135.** Michalopoulos AS, Geroulanos S, Mentzelopoulos SD. Determinants of candidemia and candidemia-related death in cardiothoracic ICU patients. *Chest*. 2003;124(6):2244-55.

- 136.** Paphitou NI, Ostrosky-Zeichner L, Rex JH. Rules for identifying patients at increased risk for candidal infections in the surgical intensive care unit: approach to developing practical criteria for systematic use in antifungal prophylaxis trials. *Med Mycol.* 2005;43(3):235-43.
- 137.** Ostrosky-Zeichner L, Sable C, Sobel J, Alexander BD, Donowitz G, Kan V, et al. Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2007;26(4):271-6.
- 138.** Agvald-Ohman C, Klingspor L, Hjelmqvist H, Edlund C. Invasive candidiasis in long-term patients at a multidisciplinary intensive care unit: *Candida* colonization index, risk factors, treatment and outcome. *Scand J Infect Dis.* 2008;40(2):145-53.
- 139.** Posteraro B, De Pascale G, Tumbarello M, Torelli R, Pennisi MA, Bello G, et al. Early diagnosis of candidemia in intensive care unit patients with sepsis: a prospective comparison of (1-->3)-beta-D-glucan assay, *Candida* score, and colonization index. *Crit Care.* 2011;15(5):R249.
- 140.** Papadimitriou-Olivgeris M, Spiliopoulou A, Fligou F, Spiliopoulou I, Tanaseskou L, Karpetas G, et al. Risk factors and predictors of mortality of candidaemia among critically ill patients: role of antifungal prophylaxis in its development and in selection of non-albicans species. *Infection.* 2017;45(5):651-7.
- 141.** Jorda-Marcos R, Alvarez-Lerma F, Jurado M, Palomar M, Nolla-Salas J, Leon MA, et al. Risk factors for candidaemia in critically ill patients: a prospective surveillance study. *Mycoses.* 2007;50(4):302-10.
- 142.** Pittet D, Monod M, Suter PM, Frenk E, Auckenthaler R. *Candida* colonization and subsequent infections in critically ill surgical patients. *Ann Surg.* 1994;220(6):751-8.

- 143.** Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK, Jr., Calandra TF, Edwards JE, Jr., et al. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis.* 2009;48(5):503-35.
- 144.** Chow JK, Golan Y, Ruthazer R, Karchmer AW, Carmeli Y, Lichtenberg DA, et al. Risk factors for albicans and non-albicans candidemia in the intensive care unit. *Crit Care Med.* 2008;36(7):1993-8.
- 145.** McKinnon PS, Goff DA, Kern JW, Devlin JW, Barletta JF, Sierawski SJ, et al. Temporal assessment of Candida risk factors in the surgical intensive care unit. *Arch Surg.* 2001;136(12):1401-8; discussion 9.
- 146.** Muskett H, Shahin J, Eyres G, Harvey S, Rowan K, Harrison D. Risk factors for invasive fungal disease in critically ill adult patients: a systematic review. *Crit Care.* 2011;15(6):R287.
- 147.** Peman J, Zaragoza R. [Towards an early diagnosis of invasive candidiasis in the critically ill patient]. *Rev Iberoam Micol.* 2012;29(2):71-5.
- 148.** Hermsen ED, Zapapas MK, Maiefski M, Rupp ME, Freifeld AG, Kalil AC. Validation and comparison of clinical prediction rules for invasive candidiasis in intensive care unit patients: a matched case-control study. *Crit Care.* 2011;15(4):R198.
- 149.** Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, Olyaei AJ, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin Infect Dis.* 2009;48(12):1695-703.
- 150.** Ito JI, Hooshmand-Rad R. Treatment of Candida infections with amphotericin B lipid complex. *Clin Infect Dis.* 2005;40 Suppl 6:S384-91.
- 151.** Azanza Perea JR. [Echinocandins: Applied pharmacology]. *Rev Iberoam Micol.* 2016;33(3):140-4.

152. Gomez J, Garcia-Vazquez E, Espinosa C, Ruiz J, Canteras M, Hernandez-Torres A, et al. Nosocomial candidemia at a general hospital: prognostic factors and impact of early empiric treatment on outcome (2002-2005). *Med Clin (Barc)*. 2010;134(1):1-5.
153. Almirante B, Rodriguez D, Park BJ, Cuenca-Estrella M, Planes AM, Almela M, et al. Epidemiology and predictors of mortality in cases of *Candida* bloodstream infection: results from population-based surveillance, barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol*. 2005;43(4):1829-35.
154. Tortorano AM, Kibbler C, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Grillot R. *Candidaemia* in Europe: epidemiology and resistance. *Int J Antimicrob Agents*. 2006;27(5):359-66.
155. Patil NK, Bohannon JK, Sherwood ER. Immunotherapy: A promising approach to reverse sepsis-induced immunosuppression. *Pharmacol Res*. 2016;111:688-702.
156. Brown KA, Pearson JD, Edgeworth JD, Lewis SM, Treacher DF. Neutrophils in development of multiple organ failure in sepsis. *Lancet*. 2006;368:157-69.
157. Alves-Filho JC, Spiller F, Cunha FQ. Neutrophil paralysis in sepsis. *Shock*. 2010;34 Suppl 1:15-21.
158. Leentjens J, Kox M, van der Hoeven JG, Netea MG, Pickkers P. Immunotherapy for the adjunctive treatment of sepsis: from immunosuppression to immunostimulation. Time for a paradigm change? *Am J Respir Crit Care Med*. 2013;187(12):1287-93.
159. Kullberg BJ, van de Veerdonk F, Netea MG. Immunotherapy: a potential adjunctive treatment for fungal infection. *Curr Opin Infect Dis*. 2014;27(6):511-6.
160. Roux D, Ricard JD. Secondary bacterial infection following first viral or fungal hit: could granulocyte-macrophage colony-stimulating factor help? *J Infect Dis*. 2014;210(8):1339-40.

161. Han Y, and J. E. Cutler. Assessment of a mouse model of neutropenia and the effect of an anti-candidiasis monoclonal antibody in these animals. *J Infect.* 1997;175(1169-1175).
162. Grau S, Romá E, Salavert M, Barrueta JA, Peral C, et al. Cost-effectiveness of three echinocandins and fluconazole in the treatment of candidemia and/or invasive candidiasis in nonneutropenic adult patients. *Clinicoecon Outcomes Res.* 2015;7:527-35.
163. Park BH, Kang YA, Park MS, Jung WJ, Lee SH, Lee SK, et al. Delta neutrophil index as an early marker of disease severity in critically ill patients with sepsis. *BMC Infect Dis.* 2011;11:299.
164. Bermejo-Martin JF, Cilloniz C, Mendez R, Almansa R, Gabarrus A, Ceccato A, et al. Lymphopenic Community Acquired Pneumonia (L-CAP), an Immunological Phenotype Associated with Higher Risk of Mortality. *EBioMedicine.* 2017;24:231-6.
165. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, Brunkhorst FM, Rea TD, Scherag A, et al. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA.* 2016;315(8):762-74.
166. Tamayo E, Alvarez FJ, Martinez-Rafael B, Bustamante J, Bermejo-Martin JF, Fierro I, et al. Ventilator-associated pneumonia is an important risk factor for mortality after major cardiac surgery. *J Crit Care.* 2012;27(1):18-25.
167. Ortega-Loubon C, Fernandez-Molina M, Carrascal-Hinojal Y, Fulquet-Carreras E. Cardiac surgery-associated acute kidney injury. *Ann Card Anaesth.* 2016;19(4):687-98.
168. Ortega-Loubon C, Fernandez-Molina M, Fierro I, Jorge-Monjas P, Carrascal Y, Gomez-Herreras JI, et al. Postoperative kidney oxygen saturation as a novel marker for acute kidney injury after adult cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 2019;157(6):2340-51 e3.

- 169.** Sozio E, Pieralli F, Azzini AM, Tintori G, Demma F, Furneri G, et al. A prediction rule for early recognition of patients with candidemia in Internal Medicine: results from an Italian, multicentric, case-control study. *Infection*. 2018;46(5):625-33.
- 170.** Caligiuri M, Levi MM, Kaushansky K, Lichtman MA, Prchal J, Burns LJ, et al. *Williams Hematology*, 9E: McGraw-Hill Education; 2015.
- 171.** Linden A, Yarnold PR. Modeling time-to-event (survival) data using classification tree analysis. *J Eval Clin Pract*. 2017;23(6):1299-308.
- 172.** Zimmerman RK, Balasubramani GK, Nowalk MP, Eng H, Urbanski L, Jackson ML, et al. Classification and Regression Tree (CART) analysis to predict influenza in primary care patients. *BMC Infect Dis*. 2016;16(1):503.
- 173.** Fonarow GC, Adams KF, Jr., Abraham WT, Yancy CW, Boscardin WJ, Adhere Scientific Advisory Committee SG, et al. Risk stratification for in-hospital mortality in acutely decompensated heart failure: classification and regression tree analysis. *JAMA*. 2005;293(5):572-80.
- 174.** Garnacho-Montero J, Diaz-Martin A, Garcia-Cabrera E, Ruiz Perez de Pipaon M, Hernandez-Caballero C, Lepe-Jimenez JA. Impact on hospital mortality of catheter removal and adequate antifungal therapy in *Candida* spp. bloodstream infections. *J Antimicrob Chemother*. 2013;68(1):206-13.
- 175.** Sbrana F, Sozio E, Bassetti M, Ripoli A, Pieralli F, Azzini AM, et al. Independent risk factors for mortality in critically ill patients with candidemia on Italian Internal Medicine Wards. *Intern Emerg Med*. 2018;13(2):199-204.
- 176.** Trouve C, Blot S, Hayette MP, Jonckheere S, Patteet S, Rodriguez-Villalobos H, et al. Epidemiology and reporting of candidaemia in Belgium: a multi-centre study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2017;36(4):649-55.

177. Jia X, Li C, Cao J, Wu X, Zhang L. Clinical characteristics and predictors of mortality in patients with candidemia: a six-year retrospective study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2018;37(9):1717-24.
178. Vinuela-Sandoval L, Falces-Romero I, Garcia-Rodriguez J, Eiros-Bouza JM. Candidemia and colonization by *Candida auris*, a diagnostic challenge. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2018;36(4):253-5.
179. Gudlaugsson O, Gillespie S, Lee K, Vande Berg J, Hu J, Messer S, et al. Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. *Clin Infect Dis.* 2003;37(9):1172-7.
180. Kato H, Yoshimura Y, Suido Y, Shimizu H, Ide K, Sugiyama Y, et al. Mortality and risk factor analysis for *Candida* blood stream infection: A multicenter study. *J Infect Chemother.* 2019;25(5):341-5.
181. Guzman JA, Tchokonte R, Sobel JD. Septic shock due to candidemia: outcomes and predictors of shock development. *J Clin Med Res.* 2011;3(2):65-71.
182. Li C, Wang H, Yin M, Han H, Yue JF, Zhang F, et al. The Differences in the Epidemiology and Predictors of Death between Candidemia Acquired in Intensive Care Units and Other Hospital Settings. *Intern Med.* 2015;54(23):3009-16.
183. Guimaraes T, Nucci M, Mendonca JS, Martinez R, Brito LR, Silva N, et al. Epidemiology and predictors of a poor outcome in elderly patients with candidemia. *Int J Infect Dis.* 2012;16(6):e442-7.
184. Bassetti M, Righi E, Ansaldi F, Merelli M, Trucchi C, De Pascale G, et al. A multicenter study of septic shock due to candidemia: outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Med.* 2014;40(6):839-45.
185. Gutierrez SM, Heredia M, Gomez E, Gomez JI, Tamayo E. Candidemia in ICU patients with sepsis. *Crit Care Med.* 2013;41(11):e385.

186. Guillamet CV, Vazquez R, Micek ST, Ursu O, Kollef M. Development and validation of a clinical prediction rule for candidemia in hospitalized patients with severe sepsis and septic shock. *J Crit Care*. 2015;30(4):715-20.
187. Eggiman P, Garbino J, and Pittet, D. Management of *Candida* species infections in critically ill patients. *Lancet Infect Dis*. 2003;3:772-85.
188. Kibbler CC, Seaton S, Barnes RA, Gransden WR, Holliman RE, Johnson EM, et al. Management and outcome of bloodstream infections due to *Candida* species in England and Wales. *Journal of Hospital Infection*. 2003;54(1):18-24.
189. Juneja D, Singh O, Javeri Y and Garg S. *Candida* Score: a predictor of mortality in patients with candidemia. *Crit Care*. 2012;16:P17.
190. Garnacho-Montero J, León-Gil, C. Resumen de las recomendaciones terapéuticas para infecciones fúngicas en el paciente crítico no neutropénico: una visión multidisciplinar. *Farm Hosp*. 2005;29(4):283-9.
191. Labelle AJ, Micek ST, Roubinian N, Kollef MH. Treatment-related risk factors for hospital mortality in *Candida* bloodstream infections. *Crit Care Med*. 2008;36(11):2967-72.
192. Gutierrez F. [Importance of advanced age in infections: myth and reality]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*. 2007;25(10):609-11.
193. Masanés F. Infecciones en el anciano. *Med Integral*. 2002;40(10):476-84.
194. Barchiesi F, Orsetti E, Mazzanti S, Trave F, Salvi A, Nitti C, et al. Candidemia in the elderly: What does it change? *PLoS One*. 2017;12(5):e0176576.
195. Hesstvedt L, Gaustad P, Muller F, Torp Andersen C, Brunborg C, Mylvaganam H, et al. The impact of age on risk assessment, therapeutic practice and outcome in candidemia. *Infect Dis (Lond)*. 2019:1-10.

- 196.** Loss SH, de Oliveira RP, Maccari JG, Savi A, Boniatti MM, Hetzel MP, et al. The reality of patients requiring prolonged mechanical ventilation: a multicenter study. *Rev Bras Ter Intensiva*. 2015;27(1):26-35.
- 197.** Motta FA, Dalla-Costa LM, Muro MD, Cardoso MN, Picharski GL, Jaeger G, et al. Risk factors for candidemia mortality in hospitalized children. *J Pediatr (Rio J)*. 2017;93(2):165-71.
- 198.** Warny M, Nordestgaard B.G, Birgens H, Bojesen S.E. Lymphopenia and risk of infection and infection-related death in 98,344 individuals from prospective Danish population-based study. *PloS Med*. 2018 Nov;15(11):e1002685.
- 199.** Mellors J.W MJB, Phair J.p, Rinaldo C.R, Detels R, Jacobson L.P. et al. . Prognostic value of HIV -1 RNA, CD4 cell count, and CD4 cell count slope for progression to AIDS and death in untreated HIV-1 infection. *JAMA*. 2007;297:2349-50.
- 200.** Wolbers M, Sabin C, Young J, Dorrucchi M, Chane G. Pretreatment DC4 cell slope and progression to AIDS or death in HIV-infected patients initiating antiretroviral therapy- the CASCADE collaboration of 23 cohort studies. *PloS Med*. 2010;7(2):e1000-239.
- 201.** Grimaldi D, Louis S, Pene F, Sirgo G, Rousseau C, Claessens YE, et al. Profound and persistent decrease of circulating dendritic cells is associated with ICU-acquired infection in patients with septic shock. *Intensive Care Med*. 2011;37(9):1438-46.
- 202.** Venet F, Davin F, Guignant C, Larue A, Cazalis MA, Darbon R, et al. Early assessment of leukocyte alterations at diagnosis of septic shock. *Shock*. 2010;34(4):358-63.
- 203.** Saroha S, Plimack E.R, Ruth K, Al-Saleem T. Lymphopenia is a Independent Predictor of Inferior Outcome in Clear Cell Renal Carcinoma. *J Urol*. 2013 feb;189(2):454-61.

-
- 204.** Vulliamy PE, Perkins ZB, Brohi K, Manson J. Persistent lymphopenia is an independent predictor of mortality in critically ill emergency general surgical patients. *Eur J Trauma Emerg Surg.* 2016;42(6):755-60.
- 205.** Chiarelli M, Tagliabue F, Brivio A, Airoidi A, Guttadauro A, Porro F, et al. Perioperative lymphocytopenia predicts mortality and severe complications after intestinal surgery. *Ann Transl Med.* 2019 Jul;7(14):311.
- 206.** Opal SM, DePalo VA. Anti-inflammatory cytokines. *Chest.* 2000;117(4):1162-72.
- 207.** Ahmadi N, Ahmadi A, Kheirali E, Hossein Yadegari M, Bayat M, Shajiei A, et al. Systemic infection with *Candida albicans* in breast tumor bearing mice: Cytokines dysregulation and induction of regulatory T cells. *J Mycol Med.* 2019;29(1):49-55.
- 208.** Raineri SM, Cortegiani A, Vitale F, Iozzo P, Giarratano A. Procalcitonin for the diagnosis of invasive candidiasis: what is the evidence? *J Intensive Care.* 2017;5:58.
- 209.** Martini A, Gottin L, Menestrina N, Schweiger V, Simion D, Vincent JL. Procalcitonin levels in surgical patients at risk of candidemia. *J Infect.* 2010;60(6):425-30.
- 210.** Charles PE, Dalle F, Aho S, Quenot JP, Doise JM, Aube H, et al. Serum procalcitonin measurement contribution to the early diagnosis of candidemia in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 2006;32(10):1577-83.
- 211.** Cortegiani A, Russotto V, Raineri SM, Gregoretti C, De Rosa FG, Giarratano A. Untargeted Antifungal Treatment Strategies for Invasive Candidiasis in Non-neutropenic Critically Ill Patients: Current Evidence and Insights. *Current Fungal Infection Reports.* 2017;11(3):84-91.

- 212.** Cortegiani A, Misseri G, Ippolito M, Bassetti M, Giarratano A, Martin-Loeches I, et al. Procalcitonin levels in candidemia versus bacteremia: a systematic review. *Crit Care*. 2019;23(1):190.
- 213.** Pieralli F, Corbo L, Torrigiani A, Mannini D, Antonielli E, Mancini A, et al. Usefulness of procalcitonin in differentiating *Candida* and bacterial blood stream infections in critically ill septic patients outside the intensive care unit. *Intern Emerg Med*. 2017;12(5):629-35.
- 214.** Giacobbe DR, Mikulska M, Tumbarello M, Furfaro E, Spadaro M, Losito AR, et al. Combined use of serum (1,3)-beta-D-glucan and procalcitonin for the early differential diagnosis between candidaemia and bacteraemia in intensive care units. *Crit Care*. 2017;21(1):176.
- 215.** Bassetti M, Calandra T, Kullberg B, Dimopoulos G, Azoulay E, Chakrabarti A, et al. Intensive care medicine research agenda on invasive fungal infection in critically ill patients. *Intensive Care Med*. 2017.
- 216.** Venet F, Chung CS, Kherouf H, Geeraert A, Malcus C, Poitevin F, et al. Increased circulating regulatory T cells (CD4(+)CD25 (+)CD127 (-)) contribute to lymphocyte anergy in septic shock patients. *Intensive Care Med*. 2009;35(4):678-86.
- 217.** Bar E, Whitney PG, Moor K, Reis e Sousa C, LeibundGut-Landmann S. IL-17 regulates systemic fungal immunity by controlling the functional competence of NK cells. *Immunity*. 2014;40(1):117-27.
- 218.** Wuthrich M, Gern B, Hung CY, Ersland K, Rocco N, Pick-Jacobs J, et al. Vaccine-induced protection against 3 systemic mycoses endemic to North America requires Th17 cells in mice. *J Clin Invest*. 2011;121(2):554-68.

-
- 219.** Spellberg BJ, Ibrahim AS, Avanesian V, Fu Y, Myers C, Phan QT, et al. Efficacy of the anti-Candida rAls3p-N or rAls1p-N vaccines against disseminated and mucosal candidiasis. *J Infect Dis.* 2006;194(2):256-60.
- 220.** Cenci E, Mencacci A, Del Sero G, Bistoni F, Romani L. Induction of protective Th1 responses to *Candida albicans* by antifungal therapy alone or in combination with an interleukin-4 antagonist. *J Infect Dis.* 1997;176(1):217-26.

IX. ANEXOS

IX.1 Certificado de publicación



Journal of
Clinical Medicine

IMPACT
FACTOR
5.688

CERTIFICATE of PUBLICATION

Certificate of publication for the article titled:

The Overlooked Immune State in Candidemia: A Risk Factor for Mortality

Authored by:

Christian Ortega-Loubon; Beatriz Cano-Hernández; Rodrigo Poves-Alvarez; María Fe Muñoz-Moreno; Patricia Román-García; Sara Balbás-Alvarez;
Olga de la Varga-Martínez; Esther Gómez-Sánchez; Estefanía Gómez-Pesquera; Mario Lorenzo-López; Eduardo Tamayo; María Heredia-Rodríguez

Published in:

J. Clin. Med. 2019, Volume 8, Issue 10, 1512



Academic Open Access Publishing
since 1996

IX.2 Publicación

Article

The Overlooked Immune State in Candidemia: A Risk Factor for Mortality

Christian Ortega-Loubon ^{1,2,*} , Beatriz Cano-Hernández ^{3,*}, Rodrigo Poves-Alvarez ³ ,
María Fe Muñoz-Moreno ⁴, Patricia Román-García ³, Sara Balbás-Alvarez ³,
Olga de la Varga-Martínez ³, Esther Gómez-Sánchez ^{2,3,5,*}, Estefanía Gómez-Pesquera ^{2,3,5},
Mario Lorenzo-López ^{2,3,5}, Eduardo Tamayo ^{2,3,5} and María Heredia-Rodríguez ^{2,5}

¹ Department of Cardiac Surgery, Clinic University Hospital of Valladolid, Ramon y Cajal Ave. 3, 47003 Valladolid, Spain

² BioCritic. Group for Biomedical Research in Critical Care Medicine, Ramon y Cajal Ave. 7, 47005 Valladolid, Spain; egp29@hotmail.com (E.G.-P.); mariolorenzo17@yahoo.es (M.L.-L.); eduardo.tamayo@uva.es (E.T.); maria_her_05@hotmail.com (M.H.-R.)

³ Department of Anaesthesiology, Clinic University Hospital of Valladolid, Ramon y Cajal Ave. 3, 47003 Valladolid, Spain; rodrigopoves@gmail.com (R.P.-A.); patyrgmp@hotmail.com (P.R.-G.); saritabalbas@hotmail.com (S.B.-A.); olga.v.m91@gmail.com (O.d.I.V.-M.)

⁴ Unit of Research, Clinic University Hospital of Valladolid, Ramon y Cajal Ave. 3, 47003 Valladolid, Spain; mfmunozm@saludcastillayleon.es

⁵ Department of Surgery, Faculty of Medicine, University of Valladolid, Ramon y Cajal Ave 7, 47005 Valladolid, Spain

* Correspondence: christlord26@gmail.com (C.O.-L.); rasucano@hotmail.com (B.C.-H.); esthergzam@hotmail.com (E.G.-S.); Tel.: +34-617-924-077 (C.O.-L.); +34-685-824-045 (B.C.-H.); +34-636-214-764 (E.G.-S.)

Received: 27 July 2019; Accepted: 17 September 2019; Published: 20 September 2019



Abstract: Lymphopenia has been related to increased mortality in septic patients. Nonetheless, the impact of lymphocyte count on candidemia mortality and prognosis has not been addressed. We conducted a retrospective study, including all admitted patients with candidemia from 2007 to 2016. We examined lymphocyte counts during the first 5 days following the diagnosis of candidemia. Multivariable logistic regression analysis was performed to determine the relationship between lymphocyte count and mortality. Classification and Regression Tree analysis was used to identify the best cut-off of lymphocyte count for mortality associated with candidemia. From 296 cases of candidemia, 115 died, (39.8% 30-day mortality). Low lymphocyte count was related to mortality and poor outcome ($p < 0.001$). Lymphocyte counts $< 0.703 \times 10^9$ cells/L at diagnosis (area under the curve (AUC)-ROC, 0.783 ± 0.042 ; 95% confidence interval (CI), $0.700\text{--}0.867$, $p < 0.001$), and lymphocyte count $< 1.272 \times 10^9$ cells/L five days later (AUC-ROC, 0.791 ± 0.038 ; 95%CI, $0.716\text{--}0.866$, $p < 0.001$) increased the odds of mortality five-fold (odds ratio (OR), 5.01; 95%CI, 2.39–10.93) at time of diagnosis, and three-fold (OR, 3.27; 95%CI, 1.24–8.62) by day 5, respectively. Low lymphocyte count is an independent predictor of mortality in patients with candidemia and might serve as a biomarker for predicting candidemia-associated mortality and poor outcome.

Keywords: lymphopenia; lymphocyte count; candidemia; mortality; prognosis; survival; immunosuppression

1. Introduction

Candidemia is a deadly infection found all over the world, accounting for 9% of all nosocomial bloodstream infection (BSI) [1,2]. This infection is associated with considerable morbidity and mortality,

including prolonged hospital stays and increased healthcare costs, with 30% to 50% occurring in patients in the intensive care unit (ICU) [3]. Importantly, the crude candidemia mortality ranges from approximately 22% to 75%, despite advances in diagnosis and therapy [4–8]. Despite advancements such as effective broad-spectrum antifungals and recent management guidelines, the incidence of candidemia has doubled over the past two decades [7,9]. Studies in Italy and France have reported 1.73 to 6.7 cases per 1000 hospital admissions, while reports in Spain found a total incidence of 8.1 cases per 1000 admissions in a 2010 nationwide study [10,11]. Currently, candidemia is the fourth leading cause of BSI in hospitalized patients in the United States, the seventh leading cause in Europe, and the third in patients admitted to the ICU [7,12–14].

Various reports have thoroughly studied candidemia in both neutropenic and non-neutropenic patients [15–18]. Ma et al. identified neutropenia as an independent risk for mortality. The etiology in non-neutropenic patients is likely to be multifactorial. Contributing factors might be patients with severe comorbidities, invasive devices, complex procedures, total parenteral nutrition (TPN), broad-spectrum antibacterial agents, and aggressive immunosuppressive therapies [1,7,18,19].

Likewise, there are numerous reports regarding lymphopenia and poor outcome following sepsis [20–22]. Drewry et al. showed that persistent lymphopenia in patients with bacteremia and sepsis, even on the fourth day following a bacteremia diagnosis, predicts early and late mortality [21]. Similarly, Adrie demonstrated that persistent lymphopenia is a risk factor for acquired infections and mortality in patients admitted in the ICU [20]. Bacterial septic shock leads to immune system dysregulation, resulting in increased predisposition for candidemia [12,23]. Nonetheless, no reports have shown the direct repercussion of lymphocyte count at time of admission and its association with mortality and outcome in patients with candidemia.

Our study aimed to describe the characteristics between survivors and non-survivors in patients with candidemia and determine if lymphocyte count is an independent predictor of in-hospital mortality and impacts prognosis.

2. Materials and Methods

2.1. Study Subjects, Setting and Design

This study (ethics review number CINV 14–49) received full approval from the local Institutional Research Review Committee. The patient informed consent requirement was waived; however, all data were gathered anonymously from the hospital database for scientific purposes, in accordance with the Spanish law regulating personal privacy matters.

We conducted a retrospective observational study of computerized medical records of patients with positive blood cultures for *Candida* spp. at the Clinic University Hospital of Valladolid (Valladolid, Spain), an 800-bed tertiary care hospital, from January 2007 to December 2016. All patients admitted to the hospital with blood cultures positive for *Candida* were included. Patients were excluded if they were younger than age 18, had any prior immunodeficiency status that could alter our results (such as neutropaenia, human immunodeficiency virus or cancer), or had received immunosuppressive therapy.

2.2. Study Variables

Demographic data included age, sex, comorbidities, central venous catheter (CVC) placement, TPN, septic shock, prolonged mechanical ventilation (PMV) or renal replacement therapy (RRT). *Candida* colonization defined both by the *Candida* Score [24], and Ostrosky-Zeichner Score [25], and echinocandin treatment were collected as well. We recorded patient lymphocyte counts obtained during the first five days following candidemia diagnosis. Comorbidities and previously diagnosed underlying diseases were already established and reported in every patient's medical record.

Candida score determines the likelihood of candidiasis, assigning one point each for TPN, abdominal surgery, and colonization and two points for sepsis [24]. The Ostrosky-Zeichner rule identifies broad-spectrum antibiotics (1 to 3 days), CVC placement (1 to 3 days), and those with at least

2 of the following risk factors: TPN (1 to 3 days), any type of dialysis (1 to 3 days), major surgery (−7 to 0 days), pancreatitis (−7 to 0 days), corticosteroids (−7 to 3 days) or other immunosuppressive agents (−7 to 0 days) [25].

The primary outcome was 30-day mortality. Secondary outcomes included the development of septic shock, PMV, and the requirement for RRT.

2.3. Definitions

An episode of candidemia was defined as the isolation of a *Candida* spp. from blood culture [3]. If there was more than 1 candidemia episode in the same patient, only the first episode was considered for the study.

Two blood culture sets from peripheral sites were obtained from patients with fever (≥ 38 °C) or clinical presentation suggestive of infection and sent off to the clinical laboratory of the Microbiology Department. The blood samples were analyzed using a BACTEC 9240 system (Becton-Dickinson Microbiology Systems, Franklin Lakes, NJ, USA) or BacT/Alert (BioMérieux SA, Marcy L'Etoile, France).

We defined septic shock using the international consensus definition for sepsis and septic shock as a subset of sepsis in which the underlying abnormalities of cellular and circulatory metabolism are profound enough to substantially increase mortality, in which vasopressor therapy is needed to elevate the mean arterial pressure ≥ 65 mmHg despite adequate fluid resuscitation [26,27]. PMV was considered greater than 48 h [28]. RRT was considered in case of potassium derangements, acid-base disbalance, fluid overload, or pronounced azotemia [29].

2.4. Statistical Analysis

Categorical variables are reported as percentages, and continuous variables are reported as the mean \pm standard deviation or median (interquartile range) as appropriate, attending normal distribution. The assumption of normality was evaluated using the Shapiro–Wilk or Kolmogorov–Smirnov tests.

The associations between survivors and non-survivors of candidemia with other variables were identified using the chi-square or Fisher's exact test (when the expected frequencies were < 5) for categorical variables, and the Student's *t*-test or the Mann-Whitney *U* test was used for continuous variables according to normality criteria.

Variables were included in univariate logistic regression analysis to derive 95% confidence intervals (CIs) for estimates. A multivariable logistic regression model was developed using a stepwise selection of predictors for 30-day mortality. Variables were included in the multivariable logistic regression model if the *p* value < 0.1 .

Regarding lymphocyte count, the optimal cut-off value with higher candidemia mortality was obtained using Classification and Regression Tree (CART) Analysis, which is ideally suited to the generation of clinical decision-making [30]. The ability of this cut-off value to predict 30-day candidemia mortality was further evaluated by using multivariate logistic regression analysis. Model calibration was assessed using the Hosmer-Lemeshow test.

Kaplan-Meier curves were plotted to show the 30-day survival probabilities according to lymphocyte counts.

All tests were 2-tailed. Odds ratio (OR) with 95% CI and *p*-values were reported. The level of significance was set at $p < 0.05$. Data were analyzed using IBM SPSS Statistics for Windows version 24.0 software (IBM Corp, Armonk, NY, USA). CART-Analysis was done utilizing the R Software (Version 3.6.0. R Core Team, R foundation for Statistical computing, VIE, AU).

3. Results

3.1. Population Description

A total of 296 cases of candidemia were diagnosed from 2007 to 2016 (mean patient age, 63 ± 17) among non-neutropenic Mediterranean Caucasian patients (59.4% men) admitted to the hospital.

Among them, 115 (38.9%) died within 30 days. Based on the 257,525 patients hospitalized over the 10-year period, the mean annual incidence of candidemia was 1.15 per 1000 admission. During their hospital stay, 146 (49.3%) patients had CVC placement, 123 (41.6%) needed PMV, 56 (18.9%) required RRT, and 82 (27.7%) received TPN.

Regarding underlying diseases, the proportions of patients with diabetes, cirrhosis, chronic obstructive pulmonary disease, heart failure (HF), renal failure, alcohol intake, dementia did not differ significantly between survivors and non-survivors. However, non-survivors were older, required more RRT, PMV, and developed more septic shock compared to survivors. Both Candida and Ostrosky scores were higher among non-survivors. Overall, only 122 (41.2%) cases received echinocandin treatment (Table 1).

Table 1. Clinical characteristics of patients with candidemia by mortality.

Variable	Total (n = 296)	Survivors (n = 181)	Non-Survivors (n = 115)	p-Value
Age	63 ± 17.4	60.0 ± 19.0	68.0 ± 13.0	<0.001
Sex (% male)	177 (59.4)	102 (56.4)	74 (64.3)	0.172
Comorbidities				
Alcohol intake	23 (7.8)	12 (6.6)	11 (9.6)	0.358
COPD	33 (11.2)	20 (11.0)	13 (11.3)	0.972
Diabetes	61 (20.6)	32 (17.7)	29 (25.2)	0.124
Renal Disease	49 (16.6)	28 (15.5)	20 (17.4)	0.662
Cirrhosis	10 (3.4)	5 (2.8)	5 (4.3)	0.518
HF	56 (18.9)	29 (16.0)	27 (23.5)	0.110
Dementia	6 (2.0)	5 (2.8)	1 (0.9)	0.260
Hospital Admission				
Source Infection				
CVC	146 (49.3)	81 (44.8)	65 (56.5)	0.004
Abdominal	30 (10.1)	15 (8.3)	15 (13.0)	
TPN	82 (27.7)	35 (19.3)	46 (40.0)	<0.001
Other	120 (40.5)	85 (47.0)	35 (30.4)	
Surgery	126 (42.6)	72 (39.8)	54 (47.0)	0.223
PMV	123 (41.6)	58 (32.0)	65 (56.5)	<0.001
RRT	56 (18.9)	28 (15.5)	28 (24.3)	0.060
Septic Shock	146 (49.3)	70 (38.7)	75 (65.2)	<0.001
Candida Score	2.0 ± 1.9	2.0 ± 1.8	3.0 ± 1.9	<0.001
Ostrosky Score	2.4 ± 2.2	1.9 ± 2.0	3.0 ± 2.2	<0.001
Lymphocyte count at diagnosis, ×10 ⁹ cells/L, median (IQR)	0.952 (1.588–0.462)	0.998 (1.746–0.535)	0.778 (1.364–0.410)	0.045
Lymphocyte count by day 2, ×10 ⁹ cells/L, median (IQR)	0.900 (1.688–0.480)	0.979 (1.745–0.543)	0.680 (1.372–0.404)	0.038
Lymphocyte count by day 3, ×10 ⁹ cells/L, median (IQR)	0.935 (1.567–0.452)	1.058 (1.614–0.613)	0.747 (1.450–0.310)	0.010
Lymphocyte count by day 4, ×10 ⁹ cells/L, median (IQR)	0.922 (1.633–0.513)	1.078 (1.803–0.581)	0.753 (1.211–0.418)	0.011
Lymphocyte count by day five, ×10 ⁹ cells/L, median (IQR)	0.947 (1.588–0.526)	1.058 (1.750–0.611)	0.858 (1.203–0.478)	0.050
Echinocandins	122 (41.2)	76 (42.0)	46 (40.0)	0.735
Causative Organism				
<i>C. albicans</i>	179 (60.4)	96 (62.3)	83 (58.5)	0.905
<i>C. parapsilosis</i>	40 (13.5)	21 (13.6)	17 (12.0)	0.525
<i>C. glabrata</i>	36 (12.5)	20 (13.0)	16 (11.3)	0.621
<i>C. tropicalis</i>	29 (9.8)	11 (7.1)	18 (12.7)	0.076
<i>C. lusitaniae</i>	12 (4.1)	4 (2.6)	8 (5.6)	0.254

Values are expressed absolute number (percentage) and mean (standard deviation). Statistical significance was defined as $p < 0.05$. Abbreviations: COPD, chronic obstructive pulmonary disease; CVC, central venous catheter; HF, heart failure; IQR, interquartile range; PMV, prolonged mechanical ventilation; RRT, renal replacement therapy; TPN, total parenteral nutrition.

CART analysis identified a lymphocyte count $<0.703 \times 10^9$ cells/L at the time of diagnosis and $<1.272 \times 10^9$ cells/L five days afterwards as optimal cut-off value with higher risk of mortality after candidemia (Figure 1).

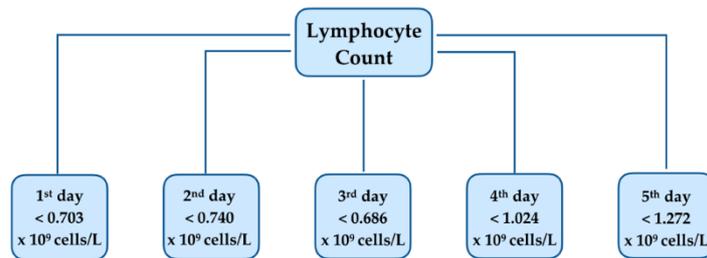


Figure 1. Decision tree generated by Classification and Regression Tree (CART) analysis, stratifying lymphocyte counts with a higher risk of mortality during the first days following the diagnosis of candidemia.

3.2. Impact of Lymphocyte Count on Mortality and Survival

At diagnosis of candidemia and by day 5, the absolute lymphocyte count was significantly higher in survivors (median, 1.058×10^9 cells/L; range, 1.750 to 0.611×10^9 cells/L) compared to the non-survivors (median, 0.858×10^9 cells/L; range, 1.203 to 0.478×10^9 cells/L; p 0.05; Table 1).

Patients with lymphocyte counts $>0.703 \times 10^9$ cells/L at diagnosis and $>1.272 \times 10^9$ cells/L at day 5 presented better survival rate. Patients with persistent low lymphocyte count who did not present a considerable rise of $>1.272 \times 10^9$ cells/L by day five showed lower survival rate than those who had $>1.272 \times 10^9$ cells/L by day five. Finally, patients with early onset of low lymphocyte count had the poorest survival rate ($p < 0.001$; Figure 2).

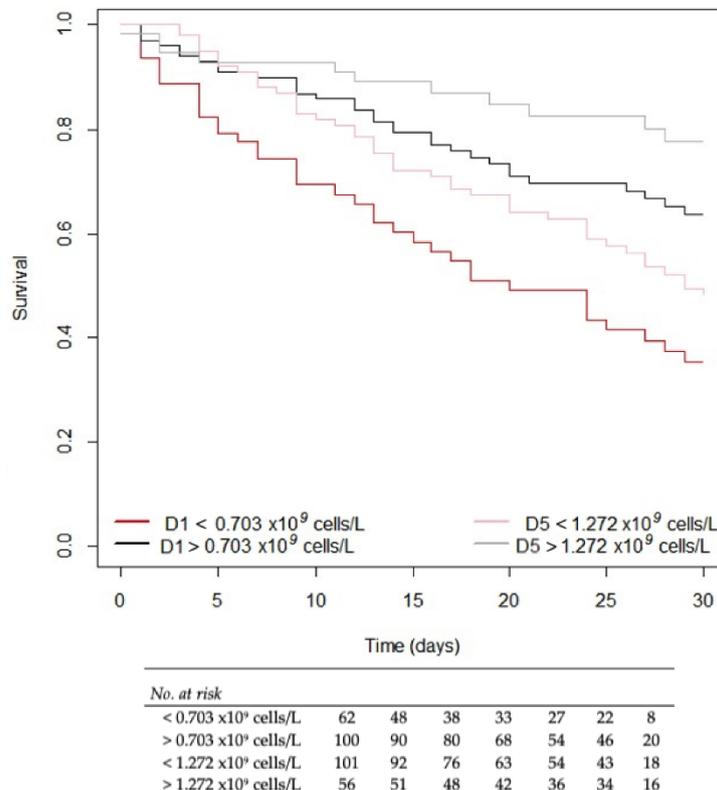


Figure 2. Survival patients with candidemia by lymphocyte count categorized by $<0.703 \times 10^9$ cells/L at diagnosis, $<1.272 \times 10^9$ cells/L 5 days later, and a comparison between each other.

3.3. Univariate and Multivariable Logistic Risk Analysis for Mortality

Univariate regression analysis identified age (OR, 1.03; 95% CI, 1.02 to 1.05), PMV (OR, 2.73; 95% CI, 1.69 to 4.43), septic shock (OR, 2.95; 95% CI, 1.81 to 4.80), candida score (OR, 1.28; 95% CI, 1.13 to 1.45), as risk factors for mortality. Likewise, the cut-off values of lymphocyte count identified by CART analysis were significantly associated with mortality (Table 2).

Table 2. Univariate regression analysis for mortality associated with candidemia.

	Univariate Analysis	
	OR (95% CI)	p-Value
Age	1.030 (1.01–1.05)	<0.001
PMV	2.734 (1.69–4.43)	<0.001
Septic shock	2.946 (1.81–4.80)	<0.001
Candida Score	1.282 (1.13–1.45)	<0.001
Lymphocyte count (diagnosis) ($<0.703 \times 10^9$ cells/L)	3.11 (1.62–5.98)	0.001
Lymphocyte count (day 2) ($<0.740 \times 10^9$ cells/L)	2.108 (1.16–3.83)	0.014
Lymphocyte count (day 3) ($<0.686 \times 10^9$ cells/L)	2.213 (1.23–3.97)	0.008
Lymphocyte count (day 4) ($<1.024 \times 10^9$ cells/L)	2.737 (1.40–5.36)	0.003
Lymphocyte count (day 5) ($<1.272 \times 10^9$ cells/L)	3.435 (1.60–7.38)	0.002

Abbreviations: CI, confidence interval; HF, heart failure; OR, odds ratio; PMV, prolonged mechanical ventilation.

Multivariable regression analysis confirmed PMV (OR, 3.07; 95% CI, 1.44 to 6.51), age (OR 1.49; 95% CI, 1.02 to 1.08), and low lymphocyte count as independent risk factors for mortality in patients with candidemia. At diagnosis, a lymphocyte count $<0.703 \times 10^9$ cells/L increases the odds of mortality 5.01-fold (OR, 5.01; 95% CI, 2.29 to 10.93). In addition, a lymphocyte count $<1.272 \times 10^9$ cells/L 5 days after diagnosis soars to a 3-fold risk (OR, 3.27; 95% CI, 1.24 to 8.62; $p < 0.001$) (Table 3).

Table 3. Multivariable regression analysis for mortality associated with candidemia using lymphocytes as dichotomous variable.

	Multivariable Analysis at Diagnosis		Multivariable Analysis at Day 5	
	OR (95% CI)	p-Value	OR (95% CI)	p-Value
PMV	3.07 (1.44–6.51)	0.004	3.98 (1.77–8.95)	0.001
Age	1.49 (1.02–1.08)	0.001	1.05 (1.01–1.08)	0.012
Lymphocyte count (diagnosis) $< 0.703 \times 10^9$ cells/L	5.01 (2.29–10.93)	0.002		
Lymphocyte count (day 5) $< 1.272 \times 10^9$ cells/L			3.27 (1.24–8.62)	0.016

Hosmer-Lemeshow at diagnosis $\chi^2_8 = 5.011$; $p = 0.756$. Hosmer-Lemeshow at day 5 $\chi^2_8 = 3.786$; $p = 0.876$. Abbreviations: CI, confidence interval; OR, odds ratio; PMV, prolonged mechanical ventilation.

Combining these variables in a multivariable logistic model and including lymphocyte count, an AUC-ROC of 0.783 (95% CI, 0.700–0.867, $p < 0.001$) at diagnosis and AUC-ROC 0.791 (95% CI, 0.716–0.866, $p < 0.001$) 5 days later were obtained (Figure 3).

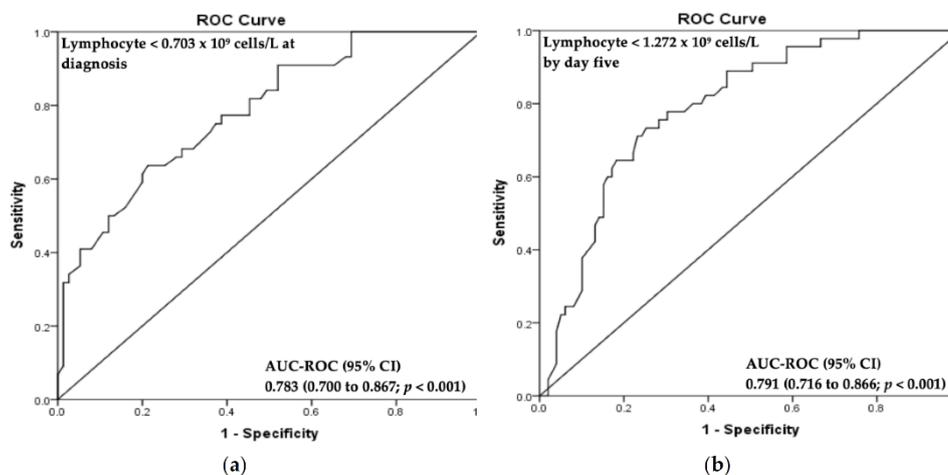


Figure 3. AUC-ROC Curve Analysis. Multivariable logistic regression model for lymphocyte count $< 0.703 \times 10^9$ cells/L at diagnosis (a), and lymphocyte count $< 1.272 \times 10^9$ cells/L by day 5 (b). Abbreviations: CI, confidence interval; AUC-ROC, area under the curve-receiver operating characteristic.

4. Discussion

This study found that persistent low lymphocyte count even 5 days after diagnosis of candidemia was an independent risk factor of 30-day mortality. Remarkably, multivariable regression analysis revealed that PMV, and age were also independent risk factors for mortality. The prognosis was better for cases with lymphocyte count $> 0.703 \times 10^9$ cells/L at diagnosis of candidemia and $> 1.272 \times 10^9$ cells/L 5 days later.

An overall 30-day mortality rate of 38.9% was observed, which correlates with the broad mortality range of candidemia. Its mortality remains significantly high, especially in critically ill patients, reaching nearly 90% in patients with septic shock [31,32]. The differences in candidemia mortality rate can vary by ages, geographical area, medical management, and antifungal drug usage. Predictors for candidemia mortality were PMV, age and lymphocyte count. These results are consistent with previous studies such as Jia et al., Poves-Alvarez et al., and Sbrana et al., who identified these factors along with septic shock, chronic kidney disease, ascites, and concomitant bacterial infection as predictors of mortality [10,33,34]. Noticeably, outcome differed considerably according to age [35]. Ramos-Martinez et al. determined age as independently associated with mortality [36]. Advanced age, especially, is a leading risk factor for mortality in patients with candidemia [37]. Elderly patients presented higher mortality than younger patients and were more likely to receive inadequate antifungal treatment or even remain untreated [38]. Garnacho-Monterio et al., Kato et al., and Papadimitriou-Olivgeris et al. identified that appropriate empirical antifungal treatment was related to better prognosis [12,39,40]. Indeed, lack of inclusion of European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease (ESCMID) and Infectious Diseases Society of America (IDSA) guideline recommendations was an independent risk factor for a higher early and overall mortality [4]. In the same way, Keighley et al. found that age > 65 years, ICU admission, chronic organ dysfunction, preceding surgery within 30 days, haematological malignancy, source of candidaemia, and antibiotic therapy for ≥ 10 days were independent risk factors for candidemia mortality, which served to develop a risk predictive score [41]. Furthermore, Ma et al. and Kang et al. identified neutropenia, *C. tropicalis*, CVC, complicated abdominal surgery, and corticosteroids as poor prognosis factors [7,42].

Strikingly, multivariable logistic regression revealed lymphopenia as the most important risk factor for mortality at diagnosis of candidemia. The odds of dying of candidemia were up to 5.01 times higher when lymphocyte counts were $< 0.703 \times 10^9$ cells/L at diagnosis. Drewry et al. demonstrated

that day 4 absolute lymphocyte count was found to be independently associated with 28-day survival, and severe persistent lymphopenia (defined as an absolute lymphocyte count $\leq 0.6 \times 10^9$ cells/L on the fourth day after sepsis diagnosis) was associated with increased development of secondary infections ($p = 0.04$) [21]. Furthermore, this study revealed that consistent low lymphocyte count, even on the fifth day after candidemia diagnosis, was related to increased mortality. The relationship between the immune system and candidemia has been studied by several authors. Toth et al. observed differences in the immune response between *C. albicans* and *C. parapsilosis*, which may serve to develop future immunotherapeutic strategies for these infections [43]. Gaffen et al. identified the paramount importance of cytokine IL-17 in the immune response against *Candida albicans* [44]. Unsinger et al. found that the treatment with IL-7 enhances the function of lymphocytes and improve candidemia outcome [45].

Following severe bacterial infections, such as sepsis, after an initial pro-inflammatory phase, an anti-inflammatory period occurs resulting in a prolonged period of the immunosuppressive stage called post-aggressive immunosuppression. This is due to a drop in the lymphocyte count as a consequence of circulating lymphocyte relocation to areas of infection, and sepsis-induced lymphocyte apoptosis [21]. This secondarily impaired immune response is correlated with poor outcomes [20]. Such severe persistent low lymphocyte count also predisposes a patient to secondary infections (e.g., a fungal infection), which in turn might explain its associated mortality, suggesting that patients who ultimately died did so due to candidemia-induced immunosuppression [21]. In fact, during a candida infection, an inflammatory response involving both pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokines is produced and promotes a helper T cells 2 (TH2) response. The differentiation of lymphocytes to TH2 leads to the suppression of the immune response by different processes in which regulatory T lymphocytes participate. The downside of these regulatory cells has been studied in different scientific reports, in which both an immune activity suppression against *C. albicans* and a greater predisposition to candidemia have been demonstrated [46,47].

Prompt antifungal therapy is critical in the treatment of candidemia [39,48]. Cuervo et al. previously demonstrated that certain measures, such as early treatment and appropriate antifungal choice, have a strong impact on prognosis [4]. Indeed, the mortality for candidemia doubles if antifungal therapy is not initiated within the first 24 h of diagnosis [49–51]. The candida score and Ostrozky score can be helpful in excluding patients who are not likely to benefit from antifungal therapy rather than selecting those who will benefit from such therapy, thus restricting the irrational use of antifungal agents [51]. We followed the IDSA and ESCMID guidelines, which recommend the use of echinocandins for critically ill patients not previously exposed to azoles or infected with a non-albicans *Candida* spp as a result of a broader spectrum and greater efficacy than traditional antifungals [52,53]. Poves-Alavrez et al., conversely, found that 30-day mortality was not modified by antifungal treatment [10]. Also, this study demonstrates that antifungal prophylaxis or specific treatment may not be enough. Despite all these measures, the overall incidence and morbidity and mortality associated with candidemia remain strikingly high. Therefore, this BSI should be approached from a different perspective. Addressing the early derangement of the immune system may be necessary, and immune-adjuvant therapy should be offered. Potential immunotherapeutic agents such as interleukin-7 or anti-programmed cell death-1 antibody may act to increase CD4 and CD8 T cell production, block lymphocyte apoptosis, and prevent T cell fatigue. The management of candidemia would be more effective if these therapies were administered to patients with evidence of low lymphocyte count and high risk for in-hospital mortality [21].

In terms of feasibility, considering the standardised laboratory lymphocyte cut-off value and that persistently low levels of circulating lymphocytes following the diagnosis of candidemia independently predicts survival, lymphocytes may serve as a useful clinical biomarker for candidemia-induced immunosuppression. Prolonged low lymphocyte count is a candidate marker of persistent immunosuppression in septic patients, and absolute lymphocyte counts are easily measured during routine care. Thus, lymphocyte counts are very suitable for clinical application in busy departments

at times of candidemia suspicion, and the routinely measured total lymphocyte count may be considered. Lymphocyte count might be used as a simple and reproducible marker of post-aggressive immunosuppression [20]. Furthermore, use of lymphocytes as biomarkers may help prevent the overuse of antifungal agents, given the poor prognosis related to lymphocyte count $<0.703 \times 10^9$ cells/L. Finally, they may serve to evaluate patient response to antifungal therapy.

Study Limitations

Given this is an observational-retrospective study, there is a potential for confounding factors because accuracy relies on adequate hospital coding. Thus, this study was prone to a possible underestimation of the real number of cases and misclassification. In addition, the timing of the antifungal agent should be recorded. Despite these limitations, and although risk factors associated with candidemia mortality are well known, this study addresses the relationship between lymphocytopenia and candidemia mortality, which was largely unexplored to date.

5. Conclusions

Persistent low lymphocyte count is an independent predictor of mortality in patients with candidemia. A lymphocyte count $<0.703 \times 10^9$ cells/L at diagnosis or $<1.272 \times 10^9$ cells/L even 5 days later indicate a poor prognosis with nearly five-fold and three-fold increases in 30-day mortality.

Author Contributions: Conceptualization, B.C.-H. and E.T.; data curation, B.C.-H., M.F.M.-M. and S.B.-A.; formal analysis, C.O.-L. and M.F.M.-M.; investigation, C.O.-L., B.C.-H., R.P.-A., E.G.-S., E.G.-P., M.L.-L., S.B.-A., P.R.-G., O.d.l.V.-M. and E.T.; methodology, C.O.-L., B.C.-H. and E.T.; project administration, B.C.-H. and E.T.; resources, C.O.-L.; software, M.F.M.-M.; supervision, E.T. and M.H.-R.; validation, C.O.-L., B.C.-H. and E.T.; visualization, C.O.-L. and B.C.-H.; writing—original draft, C.O.-L.; writing—review & editing, C.O.-L. and E.T.

Funding: This research received no external funding. The authors thank Consejería de Educación, Junta de Castilla y León, Spain (reference: VA161G18), for covering the publication charges of this article.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Sozio, E.; Pieralli, F.; Azzini, A.M.; Tintori, G.; Demma, F.; Furneri, G.; Sbrana, F.; Bertolino, G.; Fortunato, S.; Meini, S.; et al. A prediction rule for early recognition of patients with candidemia in internal medicine: Results from an Italian, multicentric, case-control study. *Infection* **2018**, *46*, 625–633. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Wisplinghoff, H.; Bischoff, T.; Tallent, S.M.; Seifert, H.; Wenzel, R.P.; Edmond, M.B. Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: Analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin. Infect. Dis.* **2004**, *39*, 309–317. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Aljeboori, Z.; Gorelik, A.; Jenkins, E.; McFarlane, T.; Darvall, J. Risk factors for candidaemia and their cumulative effect over time in a cohort of critically ill, non-neutropenic patients. *Crit. Care Resusc.* **2018**, *20*, 313–319.
4. Cuervo, G.; Garcia-Vidal, C.; Puig-Asensio, M.; Merino, P.; Vena, A.; Martin-Pena, A.; Montejo, J.M.; Ruiz, A.; Lazaro-Perona, F.; Fortun, J.; et al. Usefulness of guideline recommendations for prognosis in patients with candidemia. *Med. Mycol.* **2018**, *57*, 659–667. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Lausch, K.R.; Sogaard, M.; Rosenvinge, F.S.; Johansen, H.K.; Boysen, T.; Roder, B.; Mortensen, K.L.; Nielsen, L.; Lemming, L.; Olesen, B.; et al. High incidence of candidaemia in a nationwide cohort: Underlying diseases, risk factors and mortality. *Int. J. Infect. Dis.* **2018**, *76*, 58–63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Lee, R.A.; Zurko, J.; Camins, B.C.; Griffin, R.L.; Rodriguez, J.M.; McCarty, T.P.; Magadia, J.; Pappas, P.G. Impact of infectious disease consultation on clinical management and mortality in patients with candidemia. *Clin. Infect. Dis.* **2018**, *68*, 1585–1587. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Ma, C.F.; Li, F.Q.; Shi, L.N.; Hu, Y.A.; Wang, Y.; Huang, M.; Kong, Q.Q. Surveillance study of species distribution, antifungal susceptibility and mortality of nosocomial candidemia in a tertiary care hospital in China. *BMC Infect. Dis.* **2013**, *13*, 337. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Kullberg, B.J.; Arendrup, M.C. Invasive candidiasis. *N. Engl. J. Med.* **2015**, *373*, 1445–1456. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

9. Vaquero-Herrero, M.P.; Ragozzino, S.; Castano-Romero, F.; Siller-Ruiz, M.; Sanchez Gonzalez, R.; Garcia-Sanchez, J.E.; Garcia-Garcia, I.; Marcos, M.; Ternavasio-de la Vega, H.G. The pitt bacteremia score, charlson comorbidity index and chronic disease score are useful tools for the prediction of mortality in patients with candida bloodstream infection. *Mycoses* **2017**, *60*, 676–685. [[CrossRef](#)]
10. Poves-Alvarez, R.; Cano-Hernandez, B.; Munoz-Moreno, M.F.; Balbas-Alvarez, S.; Roman-Garcia, P.; Gomez-Sanchez, E.; Martinez-Rafael, B.; Gomez-Pesquera, E.; Lorenzo-Lopez, M.; Alvarez-Fuente, E.; et al. Impact of empirical treatment with antifungal agents on survival of patients with candidemia. *Rev. Esp. Quimioter.* **2019**, *32*, 6–14.
11. Puig-Asensio, M.; Padilla, B.; Garnacho-Montero, J.; Zaragoza, O.; Aguado, J.M.; Zaragoza, R.; Montejo, M.; Munoz, P.; Ruiz-Camps, I.; Cuenca-Estrella, M.; et al. Epidemiology and predictive factors for early and late mortality in candida bloodstream infections: A population-based surveillance in Spain. *Clin. Microbiol. Infect.* **2014**, *20*, O245–O254. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Papadimitriou-Olivgeris, M.; Spiliopoulou, A.; Fligou, F.; Spiliopoulou, I.; Tanaseskou, L.; Karpetas, G.; Marangos, M.; Anastassiou, E.D.; Christofidou, M. Risk factors and predictors of mortality of candidaemia among critically ill patients: Role of antifungal prophylaxis in its development and in selection of non-albicans species. *Infection* **2017**, *45*, 651–657. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Cleveland, A.A.; Farley, M.M.; Harrison, L.H.; Stein, B.; Hollick, R.; Lockhart, S.R.; Magill, S.S.; Derado, G.; Park, B.J.; Chiller, T.M. Changes in incidence and antifungal drug resistance in candidemia: Results from population-based laboratory surveillance in Atlanta and Baltimore, 2008–2011. *Clin. Infect. Dis.* **2012**, *55*, 1352–1361. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Delaloye, J.; Calandra, T. Invasive candidiasis as a cause of sepsis in the critically ill patient. *Virulence* **2014**, *5*, 161–169. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Falcone, M.; Tiseo, G.; Tascini, C.; Russo, A.; Sozio, E.; Raponi, G.; Rosin, C.; Pignatelli, P.; Carfagna, P.; Farcomeni, A.; et al. Assessment of risk factors for candidemia in non-neutropenic patients hospitalized in internal medicine wards: A multicenter study. *Eur. J. Intern. Med.* **2017**, *41*, 33–38. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Puig-Asensio, M.; Ruiz-Camps, I.; Fernandez-Ruiz, M.; Aguado, J.M.; Munoz, P.; Valerio, M.; Delgado-Iribarren, A.; Merino, P.; Bereciartua, E.; Fortun, J.; et al. Epidemiology and outcome of candidaemia in patients with oncological and haematological malignancies: Results from a population-based surveillance in Spain. *Clin. Microbiol. Infect.* **2015**, *21*, 491.e1-10. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Pappas, P.G.; Kauffman, C.A.; Andes, D.; Benjamin, D.K., Jr.; Calandra, T.F.; Edwards, J.E., Jr.; Filler, S.G.; Fisher, J.F.; Kullberg, B.J.; Ostrosky-Zeichner, L.; et al. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the infectious diseases society of america. *Clin. Infect. Dis.* **2009**, *48*, 503–535. [[CrossRef](#)]
18. Shahin, J.; Allen, E.J.; Patel, K.; Muskett, H.; Harvey, S.E.; Edgeworth, J.; Kibbler, C.C.; Barnes, R.A.; Biswas, S.; Soni, N.; et al. Predicting invasive fungal disease due to candida species in non-neutropenic, critically ill, adult patients in United Kingdom critical care units. *BMC Infect. Dis.* **2016**, *16*, 480. [[CrossRef](#)]
19. Giri, S.; Kindo, A.J. A review of candida species causing blood stream infection. *Indian J. Med. Microbiol.* **2012**, *30*, 270–278.
20. Adrie, C.; Lugosi, M.; Sonneville, R.; Souweine, B.; Ruckly, S.; Cartier, J.C.; Garrouste-Orgeas, M.; Schwebel, C.; Timsit, J.F.; OUTCOMEREA study group. Persistent lymphopenia is a risk factor for icu-acquired infections and for death in icu patients with sustained hypotension at admission. *Ann. Intensive. Care* **2017**, *7*, 30. [[CrossRef](#)]
21. Drewry, A.M.; Samra, N.; Skrupky, L.P.; Fuller, B.M.; Compton, S.M.; Hotchkiss, R.S. Persistent lymphopenia after diagnosis of sepsis predicts mortality. *Shock* **2014**, *42*, 383–391. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Vulliamy, P.E.; Perkins, Z.B.; Brohi, K.; Manson, J. Persistent lymphopenia is an independent predictor of mortality in critically ill emergency general surgical patients. *Eur. J. Trauma Emerg. Surg.* **2016**, *42*, 755–760. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. King, E.G.; Bauza, G.J.; Mella, J.R.; Remick, D.G. Pathophysiologic mechanisms in septic shock. *Lab. Investig.* **2014**, *94*, 4–12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Leon, C.; Ruiz-Santana, S.; Saavedra, P.; Almirante, B.; Nolla-Salas, J.; Alvarez-Lerma, F.; Garnacho-Montero, J.; Leon, M.A.; Group, E.S. A bedside scoring system (“candida score”) for early antifungal treatment in nonneutropenic critically ill patients with candida colonization. *Crit. Care Med.* **2006**, *34*, 730–737. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

25. Ostrosky-Zeichner, L.; Sable, C.; Sobel, J.; Alexander, B.D.; Donowitz, G.; Kan, V.; Kauffman, C.A.; Kett, D.; Larsen, R.A.; Morrison, V.; et al. Multicenter retrospective development and validation of a clinical prediction rule for nosocomial invasive candidiasis in the intensive care setting. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2007**, *26*, 271–276. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Seymour, C.W.; Liu, V.X.; Iwashyna, T.J.; Brunkhorst, F.M.; Rea, T.D.; Scherag, A.; Rubenfeld, G.; Kahn, J.M.; Shankar-Hari, M.; Singer, M.; et al. Assessment of clinical criteria for sepsis: For the third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA* **2016**, *315*, 762–774. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Singer, M.; Deutschman, C.S.; Seymour, C.W.; Shankar-Hari, M.; Annane, D.; Bauer, M.; Bellomo, R.; Bernard, G.R.; Chiche, J.D.; Coopersmith, C.M.; et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3). *JAMA* **2016**, *315*, 801–810. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Tamayo, E.; Alvarez, F.J.; Martinez-Rafael, B.; Bustamante, J.; Bermejo-Martin, J.F.; Fierro, I.; Eiros, J.M.; Castrodeza, J.; Heredia, M.; Gomez-Herrerias, J.L.; et al. Ventilator-associated pneumonia is an important risk factor for mortality after major cardiac surgery. *J. Crit. Care* **2012**, *27*, 18–25. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Ortega-Loubon, C.; Fernandez-Molina, M.; Carrascal-Hinojal, Y.; Fulquet-Carreras, E. Cardiac surgery-associated acute kidney injury. *Ann. Card. Anaesth.* **2016**, *19*, 687–698. [[CrossRef](#)]
30. Fonarow, G.C.; Adams, K.F., Jr.; Abraham, W.T.; Yancy, C.W.; Boscardin, W.J.; ADHERE Scientific Advisory Committee, Study Group, and Investigators. Risk stratification for in-hospital mortality in acutely decompensated heart failure: Classification and regression tree analysis. *JAMA* **2005**, *293*, 572–580. [[CrossRef](#)]
31. Guzman, J.A.; Tchokonte, R.; Sobel, J.D. Septic shock due to candidemia: Outcomes and predictors of shock development. *J. Clin. Med. Res.* **2011**, *3*, 65–71. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Li, C.; Wang, H.; Yin, M.; Han, H.; Yue, J.F.; Zhang, F.; Shan, T.C.; Guo, H.P.; Wu, D.W. The differences in the epidemiology and predictors of death between candidemia acquired in intensive care units and other hospital settings. *Intern. Med.* **2015**, *54*, 3009–3016. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Sbrana, F.; Sozio, E.; Bassetti, M.; Ripoli, A.; Pieralli, F.; Azzini, A.M.; Morettini, A.; Nozzoli, C.; Merelli, M.; Rizzardo, S.; et al. Independent risk factors for mortality in critically ill patients with candidemia on italian internal medicine wards. *Intern. Emerg. Med.* **2018**, *13*, 199–204. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Jia, X.; Li, C.; Cao, J.; Wu, X.; Zhang, L. Clinical characteristics and predictors of mortality in patients with candidemia: A six-year retrospective study. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **2018**, *37*, 1717–1724. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Hesstvedt, L.; Gaustad, P.; Muller, F.; Torp Andersen, C.; Brunborg, C.; Mylvaganam, H.; Leiva, R.A.; Erik Berdal, J.; Egil Ranheim, T.; Johnsen, B.O.; et al. The impact of age on risk assessment, therapeutic practice and outcome in candidemia. *Infect. Dis.* **2019**, *51*, 425–434. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Ramos-Martinez, A.; Vicente-Lopez, N.; Sanchez-Romero, I.; Padilla, B.; Merino-Amador, P.; Garnacho-Montero, J.; Ruiz-Camps, I.; Montejo, M.; Salavert, M.; Mensa, J.; et al. Epidemiology and prognosis of candidaemia in elderly patients. *Mycoses* **2017**, *60*, 808–817. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Guimaraes, T.; Nucci, M.; Mendonca, J.S.; Martinez, R.; Brito, L.R.; Silva, N.; Moretti, M.L.; Salomao, R.; Colombo, A.L. Epidemiology and predictors of a poor outcome in elderly patients with candidemia. *Int. J. Infect. Dis.* **2012**, *16*, e442–e447. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Barchiesi, F.; Orsetti, E.; Mazzanti, S.; Trave, F.; Salvi, A.; Nitti, C.; Manso, E. Candidemia in the elderly: What does it change? *PLoS ONE* **2017**, *12*, e0176576. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Kato, H.; Yoshimura, Y.; Suido, Y.; Shimizu, H.; Ide, K.; Sugiyama, Y.; Matsuno, K.; Nakajima, H. Mortality and risk factor analysis for candida blood stream infection: A multicenter study. *J. Infect. Chemother.* **2019**, *25*, 341–345. [[CrossRef](#)]
40. Garnacho-Montero, J.; Diaz-Martin, A.; Canton-Bulnes, L.; Ramirez, P.; Sierra, R.; Arias-Verdu, D.; Rodriguez-Delgado, M.; Loza-Vazquez, A.; Rodriguez-Gomez, J.; Gordon, M.; et al. Initial antifungal strategy reduces mortality in critically ill patients with candidemia: A propensity score-adjusted analysis of a multicenter study. *Crit. Care Med.* **2018**, *46*, 384–393. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Keighley, C.; Chen, S.C.; Marriott, D.; Pope, A.; Chapman, B.; Kennedy, K.; Bak, N.; Underwood, N.; Wilson, H.L.; McDonald, K.; et al. Candidaemia and a risk predictive model for overall mortality: A prospective multicentre study. *BMC Infect. Dis.* **2019**, *19*, 445. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Kang, S.J.; Kim, S.E.; Kim, U.J.; Jang, H.C.; Park, K.H.; Shin, J.H.; Jung, S.I. Clinical characteristics and risk factors for mortality in adult patients with persistent candidemia. *J. Infect.* **2017**, *75*, 246–253. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

43. Toth, A.; Csonka, K.; Jacobs, C.; Vagvolgyi, C.; Nosanchuk, J.D.; Netea, M.G.; Gacser, A. Candida albicans and candida parapsilosis induce different t-cell responses in human peripheral blood mononuclear cells. *J. Infect. Dis.* **2013**, *208*, 690–698. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Gaffen, S.L.; Hernandez-Santos, N.; Peterson, A.C. Il-17 signaling in host defense against candida albicans. *Immunol. Res.* **2011**, *50*, 181–187. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Unsinger, J.; Burnham, C.A.; McDonough, J.; Morre, M.; Prakash, P.S.; Caldwell, C.C.; Dunne, W.M., Jr.; Hotchkiss, R.S. Interleukin-7 ameliorates immune dysfunction and improves survival in a 2-hit model of fungal sepsis. *J. Infect. Dis.* **2012**, *206*, 606–616. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Ahmadi, N.; Ahmadi, A.; Kheirali, E.; Hossein Yadegari, M.; Bayat, M.; Shajiei, A.; Amini, A.A.; Ashrafi, S.; Abolhassani, M.; Faezi, S.; et al. Systemic infection with candida albicans in breast tumor bearing mice: Cytokines dysregulation and induction of regulatory t cells. *J. Mycol. Méd.* **2019**, *29*, 49–55. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Netea, M.G.; Suttmuller, R.; Hermann, C.; Van der Graaf, C.A.; Van der Meer, J.W.; van Krieken, J.H.; Hartung, T.; Adema, G.; Kullberg, B.J. Toll-like receptor 2 suppresses immunity against candida albicans through induction of il-10 and regulatory t cells. *J. Immunol.* **2004**, *172*, 3712–3718. [[CrossRef](#)]
48. Pfaller, M.; Neofytos, D.; Diekema, D.; Azie, N.; Meier-Kriesche, H.U.; Quan, S.P.; Horn, D. Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: Data from the prospective antifungal therapy (path alliance(r)) registry, 2004–2008. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **2012**, *74*, 323–331. [[CrossRef](#)]
49. Kollef, M.; Micek, S.; Hampton, N.; Doherty, J.A.; Kumar, A. Septic shock attributed to candida infection: Importance of empiric therapy and source control. *Clin. Infect. Dis.* **2012**, *54*, 1739–1746. [[CrossRef](#)]
50. Bassetti, M.; Righi, E.; Ansaldi, F.; Merelli, M.; Trucchi, C.; De Pascale, G.; Diaz-Martin, A.; Luzzati, R.; Rosin, C.; Lagunes, L.; et al. A multicenter study of septic shock due to candidemia: Outcomes and predictors of mortality. *Intensive Care Med.* **2014**, *40*, 839–845. [[CrossRef](#)]
51. Ahmed, A.; Azim, A.; Baronia, A.K.; Marak, K.R.; Gurjar, M. Risk prediction for invasive candidiasis. *Indian J. Crit. Care Med.* **2014**, *18*, 682–688. [[PubMed](#)]
52. Pappas, P.G.; Kauffman, C.A.; Andes, D.R.; Clancy, C.J.; Marr, K.A.; Ostrosky-Zeichner, L.; Reboli, A.C.; Schuster, M.G.; Vazquez, J.A.; Walsh, T.J.; et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the infectious diseases society of america. *Clin. Infect. Dis.* **2016**, *62*, e1–e50. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Ullmann, A.J.; Cornely, O.A.; Donnelly, J.P.; Akova, M.; Arendrup, M.C.; Arikan-Akdagli, S.; Bassetti, M.; Bille, J.; Calandra, T.; Castagnola, E.; et al. Escmid* guideline for the diagnosis and management of candida diseases 2012: Developing european guidelines in clinical microbiology and infectious diseases. *Clin. Microbiol. Infect.* **2012**, *18*, 1–8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



IX.3 Documento de aprobación del proyecto de investigación

El documento de aprobación para la realización de nuestro trabajo de investigación es el concedido por parte de la comisión de investigación clínica de nuestro área de salud a nuestro equipo de investigación liderado por el Dr. Eduardo Tamayo Gómez. Esta aprobación va a dirigida a los trabajos realizados sobre candidemia llevados a cabo con la misma metodología, basándose en la recogida de datos de manera retrospectiva a partir de los registros hospitalarios del Hospital Clínico Universitario de Valladolid y cumpliendo la ley de protección de datos.



HOSPITAL CLINICO UNIVERSITARIO
Avda Ramón y Cajal, 3
47005 VALLADOLID

COMISIÓN DE INVESTIGACIÓN
Ext 66383



COMISION DE INVESTIGACIÓN AUTORIZACIÓN PARA LA REALIZACIÓN DE PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN

JESUS FCO. BERMEJO MARTIN, Presidente de la Comisión de Investigación del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, una vez revisado el proyecto:

Título: “ **Influencia de los nuevos antifúngicos en la mortalidad de la Candidemia**”

Investigador Principal: Rodrigo Poves Álvarez

Equipo Investigador: Eduardo Tamayo Gómez y José Ignacio Gómez Herreras

Servicios Implicados: Anestesiología y Reanimación

Informa que **la Comisión de Investigación ha decidido:**

La **APROBACIÓN DEFINITIVA** del Proyecto.

En Valladolid a, 19 de mayo de 2014

El Presidente de la Comisión de Investigación



Fdo.: Jesús Fco. Bermejo Martín.

CINV 14-49

Observaciones:

- Se aconseja almacenar la información clínica en el Sistema de Gestión de Datos para Investigación

