

# Complicaciones infecciosas asociadas al daño colateral por antimicrobianos

Lourdes Rodríguez Piazze<sup>1</sup>

Los efectos inesperados o indeseados en la ecología bacteriana como resultado de la presión selectiva ejercida por el uso de antimicrobianos en los seres humanos se traduce en: la disminución de la resistencia a la colonización por patógenos oportunistas (disbacteriosis), resistencia al antimicrobiano en uso, resistencia a otros antimicrobianos, resistencia indirecta en otros pacientes por transmisión horizontal de los patógenos que emergen en los sujetos tratados.

Este efecto, accidental o no intencional es lo que en las operaciones militares se define como *Daño Colateral*, refiriéndose al daño producido por fuego amigo en las fuerzas propias o a la destrucción de civiles y sus propiedades.

Las modificaciones en la flora bacteriana intestinal, en piel o mucosas, es una de los factores más importantes en la aparición de infecciones como consecuencia del uso de antibióticos.

Las complicaciones infecciosas más importantes asociadas a este daño colateral, son la diarrea y/o colitis asociada a antibióticos y la candidiasis invasiva oportunista (Candidemia y Candidiasis diseminada).

## Colitis Asociada a Antibióticos

La diarrea, es una de las complicaciones más frecuentes asociadas al tratamiento antibiótico y la colitis es una de las más graves. Las tasas de ataque varían en función del antibiótico empleado, el cuadro epidemiológico y el huésped. En general, las tasas de ataque para diarreas hospitalarias asociadas a antibióticos son del 3,2-29%<sup>(1)</sup>. Casi el 15% de los pacientes hospitalizados en tratamiento con  $\beta$ -lactámicos desarrollan diarrea, y las tasas de los que reciben clindamicina son del 10-25%<sup>(1)</sup>.

Entre los factores predisponentes del huésped y las circunstancias que afectan a la frecuencia y la gravedad de la afección se encuentran la edad avanzada, la enfermedad de base, cirugías recientes y la administración reciente de fármacos que alteren la motilidad intestinal.

Actualmente, *Clostridium difficile* es una causa conocida frecuente de diarrea y colitis asociadas a antibióticos, y la incidencia de diarrea asociada a *C. difficile* parece estar aumentando.<sup>(2)</sup> Se encuentra implicado en el 20-30% de los pacientes con diarrea asociada a antibióticos, en el 50-75% de

la colitis asociada a antibióticos y en más del 90% de los pacientes con colitis pseudomembranosa asociada a antibióticos<sup>(3)</sup>. Desde el 2000, la mortalidad y la morbilidad han aumentado de forma espectacular en algunas áreas asociadas a la aparición de cepas epidémicas de *C. difficile*<sup>(4)</sup>.

No se conoce mucho de la etiología de la diarrea y la colitis relacionadas con antibióticos no causadas por *C. difficile*. *Staphylococcus aureus* se consideró en su momento como la causa de colitis asociada a antibióticos, pero hoy se le implica en muy pocos casos. En la última década se ha prestado más atención a una posible relación con *Cándida spp.*, sobre todo en pacientes ancianos hospitalizados<sup>(5)</sup>. En casi todos los pacientes no hay colitis y, en la mayor parte de los casos descritos, el tratamiento con nistatina oral logra la mejoría. No obstante, faltan datos definitivos que establezcan la patogenicidad de *Cándida* en la diarrea, y se han observado casos de intensa colonización en ausencia de la misma. También se ha citado a *Clostridium perfringens* enterotoxigénico como posible causa de diarrea asociada a antibióticos, y en un estudio se aisló enterotoxina de *C. perfringens* en las heces en el 8% de los pacientes con este cuadro<sup>(6)</sup>. La exposición reciente a antibióticos, tanto en los casos esporádicos como en los brotes de salmonelosis, ha surgido como un claro factor de riesgo<sup>(7)</sup>. Se ha registrado un brote nosocomial de salmonelosis resistente a fluorquinolonas: en el estudio de casos y controles, el tratamiento con fluorquinolonas supuso un riesgo significativo de infección<sup>(8)</sup>. Las modificaciones en el metabolismo de los hidratos de carbono y de los ácidos grasos de cadena corta también pueden influir en la diarrea asociada a antibióticos no causada por agentes infecciosos<sup>(9)</sup>.

Desde finales de la década de 1960, y tras el descubrimiento de *C. difficile* en 1977 como la principal causa de colitis asociada a antibióticos, la diarrea estafilocócica asociada a antibióticos casi ha desaparecido de la literatura médica, con tan sólo unos pocos casos notificados en Estados Unidos y Japón<sup>(10)</sup>. Existen al menos tres explicaciones para la drástica disminución de los casos de enterocolitis estafilocócica publicados: 1) los estafilococos estaban erróneamente implicados y no tenían relación alguna con la enterocolitis pseudomembranosa<sup>(11)</sup>; 2) la incidencia real de la enfermedad ha disminuido significativamente tras la introducción de penicilinas estables frente a  $\beta$ -lactamasas<sup>(12)</sup>, ó 3) el cuadro persiste, pero es ignorado debido al énfasis en las pruebas para la toxina de *C. difficile* y al uso de vancomicina empírica en la diarrea asociada a antibióticos<sup>(10)</sup>.

<sup>1</sup> Médica Especialista en Enfermedades Infecciosas y Tropicales., Hospital Nacional Guillermo Almenara (HNGA). Profesora de Infectología, Universidad San Martín de Porres (USMP).

Desde mediados de la década del 70, la literatura hace hincapié en las tasas de ataque de diarrea y colitis pseudomembranosa asociadas al uso de antibióticos individuales. Diversos estudios observaron casos de diarrea asociada a clindamicina (y a lincomicina), que oscilaban del 7% al 21%<sup>(13)</sup>, y tasas de diarrea asociada a ampicilina del 4%-17%<sup>(13-14)</sup>.

Es a finales de la década del 70, que diversos investigadores determinaron que el *C. difficile* toxigénico era el causante de la colitis pseudomembranosa.

Hall y O'Toole<sup>(15)</sup>, cuarenta y tres años antes de que se descubriese a *C. difficile* como patógeno, aislaron este microorganismo durante un estudio de la microflora intestinal en recién nacidos. Describieron un bacilo toxigénico gram positivo, anaerobio obligado y productor de esporas. Debido a la extrema dificultad para su aislamiento y estudio se denominó *Bacillus difficilis*<sup>(16)</sup>. Tres años después se rebautizó como *Clostridium difficile*. Tiene un tamaño relativamente grande (2-17 µm de longitud) y un crecimiento rápido. Al microscopio electrónico se observa que muchas cepas presentan flagelos o estructuras similares a fimbrias<sup>(17)</sup>. Las proteínas de la capa superficial son antígenos inmunológicamente reconocidos<sup>(18)</sup> que confieren especificidad serológica<sup>(19)</sup>.

Los pasos clave en la patogenia de la diarrea y colitis mediadas por *C. difficile* son:

- a) la alteración de la microflora colónica normal por antibióticos o antineoplásicos con actividad antibacteriana,
- b) la colonización con *C. difficile* toxigénico,
- c) la elaboración de toxina A, B o ambas (estos dos tipos de toxinas median en la alteración citoesquelética en las células diana) y
- d) la lesión e inflamación de la mucosa.

Recientemente ha aumentado la frecuencia de los episodios de enfermedad por *C. difficile* no asociados a antibióticos o quimioterapia, sobre todo en pacientes ambulatorios<sup>(20)</sup>. No está claro si algunas cepas han adquirido nuevas características de virulencia que les permite colonizar en presencia de una microflora normal o si factores distintos a antibióticos alteran dicha microflora.

La microflora intestinal normal constituye un sistema defensivo del huésped complejo y mal conocido. Tanto los estudios clásicos como los moleculares indican que cientos de microorganismos distintos componen este ecosistema<sup>(21)</sup>. En modelos animales se ha demostrado que estos microorganismos en masa confieren resistencia a la colonización por *C. difficile* y la alteración de este ecosistema microbiano con antibióticos es un requisito previo para el establecimiento de la enfermedad por *C. difficile*.

A medida que el *C. difficile* coloniza el colon, libera dos potentes toxinas que finalmente intervienen en la diarrea y la colitis. Una concentración más elevada de toxina se asocia a una mayor gravedad de la colitis<sup>(22)</sup> y las concentraciones

subinhibitorias de antibióticos tienden a aumentar la producción de la misma<sup>(23-24)</sup>.

Son dos grandes exotoxinas (la toxina A mide 308 kDa y la toxina B es una citosina de 269 kDa)<sup>(25)</sup> figuran entre las toxinas bacterianas más mortales que hayan sido estudiadas<sup>(26)</sup> y se han mostrado activas frente a más de 20 líneas celulares de diferentes especies y tejidos de mamíferos<sup>(26)</sup>.

La toxina A se une a receptores específicos de carbohidratos que contienen la porción carbohidrato galactosa-β-1,4-N-acetil glucosamina<sup>(27)</sup>, aunque parece que también hay otros receptores<sup>(63)</sup>. Tres antígenos del carbohidrato que tienen esta estructura (Lewis I, X e Y, que existen en el epitelio intestinal humano) se unen a la toxina A<sup>(28)</sup>. La toxina B presenta cualidades de autoagregación que dificultan trabajar con ella y sus receptores aún no han sido identificados.

En modelos animales (conejos), se ha evidenciado que una vez que las toxinas se encuentran en el citoplasma, ambas toxinas, A y B, inactivan las proteínas Rho, una familia de pequeñas proteínas que se unen al guanosintrifosfato y que regulan el citoesqueleto de actina y diversos procesos de transducción de señales<sup>(29)</sup>. La presencia de las toxinas alteran la regulación del Rho y a través de éste el citoesqueleto se desestructura, la célula adopta forma redondeada y se retrae. Las toxinas catalizan la monoglucosilación del Rho, contribuyendo a una muerte celular programada. En estos modelos se observó también que la toxina A de *C. difficile* produce secreción de líquido intestinal, lesión de la mucosa e inflamación, con evidencia de respuesta inflamatoria aguda, con infiltración de leucocitos polimorfonucleares y mononucleares de la lámina propia. La toxina B no tiene un efecto demostrable sobre la permeabilidad, la secreción de líquido, la migración de neutrófilos o los cambios en la morfología intestinal en el modelo de conejo, pero también altera las uniones estrechas en las monocapas de células epiteliales humanas. En un modelo de migración de neutrófilos en ratas, la toxina B estimuló un intenso reclutamiento de neutrófilos mediante el factor de necrosis tumoral alfa derivado de macrófagos y lipoxigenasa<sup>(30)</sup>. Esta condición explica porque cepas carentes de la toxina A pueden mostrar toda la virulencia en el ser humano. Algunas cepas de *C. difficile* producen una tercera toxina que pertenece a la clase de toxinas clostridiales binarias. Esta toxina ADP-ribosilante específica de la actina se asocia con cepas que tienden a causar una enfermedad más grave. Sin embargo, es dudoso que dicha toxina binaria sea responsable de una mayor gravedad clínica. La producción de toxina binaria sola no es suficiente para que *C. difficile* produzca enfermedad en el modelo de hámster<sup>(31)</sup>.

#### ¿Qué desencadena la diarrea por *C. difficile*?

A pesar que casi todos los tipos de antibióticos se han relacionado con la enfermedad, la literatura implica con mayor frecuencia a la clindamicina, las penicilinas, las cefalosporinas y más recientemente, las fluoroquinolonas<sup>(32)</sup>. También varios antineoplásicos, sobre todo los que presentan una cierta acción

antibacteriana, se han asociado a enfermedad diarreica por *C. difficile*. Entre estos se encuentran: doxorubicina, cisplatino, ciclofosfamida, 5-fluorouracilo, clorambucilo y metotrexato<sup>(33)</sup>. De forma esporádica, la enfermedad puede aparecer sin que haya existido exposición a agentes capaces de alterar la microflora intestinal<sup>(34)</sup>.

#### *¿Existen factores coadyuvantes para la aparición de C. difficile?*

Además del uso de antibióticos, algunas condiciones del huésped y del entorno favorecen también la aparición de diarrea asociada a *C. difficile*. McFarland y cols., identificó que la edad avanzada y la gravedad de la enfermedad de fondo eran factores de riesgo para presentar estado de portador de *C. difficile* y diarrea. El uso de productos capaces de alterar la motilidad intestinal (enemas y estimulantes gastrointestinales como laxantes), también se asociaron a un mayor riesgo. Otros investigadores observaron que pacientes quemados en estado crítico y aquellos sometidos a cirugía abdominal tienen un mayor riesgo de diarrea y colitis por *C. difficile*.

La infección por el Virus de Inmunodeficiencia humana (VIH) no parece predisponer en sí misma a la colonización por *C. difficile*, y los factores de riesgo específicos para la enfermedad asociada a *C. difficile* en pacientes con infección por VIH, son al parecer, similares a los de las personas VIH-negativas<sup>(35)</sup>.

#### *¿Quiénes son los Reservorios?*

La capacidad de *C. difficile* para colonizar de forma temporal a recién nacidos humanos, hámsters y terneros<sup>(36-37)</sup>, parece indicar que los aparatos digestivos de mamíferos muy jóvenes pueden ser un reservorio principal. Además se ha observado en los últimos años que *C. difficile* coloniza los aparatos digestivos de varios animales, como perros, gatos, ganado vacuno, cerdos, caballos y elefantes<sup>(38)</sup>. El ser humano comparte una amplia variedad de cepas con otros mamíferos. También se encuentra en muchas fuentes extrahospitalarias y se ha cultivado del suelo, piscinas y playas, así como de agua del mar, de río y de cañerías domiciliarias.

En adultos sanos las tasas de portadores intestinales de *C. difficile* toxigénico suelen ser del 3% o menos, y no exceden del 8%. En adultos hospitalizados, sobre todo entre los que se han tratado con antibióticos las tasas de portadores intestinales asintomáticos son mayores (alrededor del 20%)<sup>(1)</sup>.

No es un prerrequisito un reservorio endógeno previo para presentar infección sintomática, la mayoría de los microorganismos causantes de enfermedad parecen haber sido adquiridos a partir de fuentes exógenas. El dato que apoya la relevancia de la adquisición en el entorno de *C. difficile* es el número de brotes notificados en hospitales, centros de pacientes crónicos y guarderías. En otro estudio interesante, se encontró un 59% de cultivos positivos para *C. difficile* obtenidos de las manos del personal hospitalario que atendía a los pacientes que diseminaban la bacteria<sup>(39)</sup>.

En un hospital pueden circular simultáneamente numerosas cepas con distinta virulencia. Al igual que en el modelo de hámster<sup>(40)</sup>, las cepas no toxigénicas parecen proteger frente a la enfermedad, mientras que otras tienen un alto potencial patógeno.

La cepa epidémica de *C. difficile* NAP1/027 se describió originalmente en 2003 en Quebec, Canadá y se asoció a una mayor incidencia de enfermedad así como a un compromiso más grave y mortal<sup>(41)</sup>. Esta cepa produce una toxina binaria y tiene una delección de 18 pares de bases en el elemento regulador de su estructura. Produce mayor cantidad de toxina que la mayoría de las cepas de *C. difficile* y tiende a ser resistente a las fluoroquinolonas.

#### *¿Cuál es el cuadro clínico?*

La infección por *C. difficile* toxigénico origina un espectro de enfermedad que varía desde el estado de portador asintomático (en especial en los recién nacidos), hasta una colitis fulminante, recidivante y en ocasiones, mortal. Los síntomas y signos usualmente aparecen después de 5-10 días de tratamiento antibiótico, pero la diarrea puede presentarse desde el primer día de tratamiento hasta 10 semanas después de su interrupción. La diarrea puede ser breve y autolimitada o puede ser coleriforme, con más de 20 deposiciones al día. Suele ir acompañada de fiebre (30-50% de los pacientes), leucocitosis (50-60%) y dolor abdominal o retortijones (20-33%). Se puede acompañar de anorexia o hiporexia, hipoalbuminemia, sangre oculta en heces y deshidratación. La colitis por *C. difficile* puede manifestarse muy pocas veces sin diarrea, como un síndrome de abdomen agudo o de megacolon tóxico. La dilatación aguda del colon hasta un diámetro de 6 cm, la toxicidad sistémica y la ausencia de obstrucción mecánica sugieren un megacolon tóxico, con mortalidad elevada (64% en una serie de 11 pacientes)<sup>(42)</sup>. Otras complicaciones intra-abdominales son: perforación del colon, vólvulo del colon transversal, enteropatía con pérdida de proteínas y diarrea recidivante asociada a *C. difficile*. Esta última se presenta en alrededor del 20% de los pacientes<sup>(43)</sup>.

Las manifestaciones extraintestinales son poco frecuentes, y entre ellas se encuentran la bacteriemia, por lo general acompañada del aislamiento de otros microorganismos presentes en la flora intestinal, abscesos esplénicos y osteomielitis.

La anatomía patológica frecuentemente muestra una colitis inespecífica. Pero en los casos más graves, la endoscopia permite observar el aspecto macroscópico típico de la colitis pseudomembranosa. La mucosa del colon presenta una serie de placas elevadas y adherentes, de color blanco-amarillento. Estas lesiones son pequeñas e individuales y se separan con facilidad. La mucosa situada entre ellas puede estar inflamada y cubierta de moco, pero muchas veces tiene un aspecto completamente normal. Al progresar la enfermedad, las placas pseudomembranosas pueden aumentar y fusionarse. Puede haber pseudomembranas a lo largo de todo el colon, aunque suelen ser más abundantes en el recto y en el sigmoide;

la enfermedad no suele extenderse más allá de la válvula ileocecal.

#### ¿Cómo hacer el Diagnóstico?

La primera parte del diagnóstico, es sospechar la enfermedad en pacientes con diarrea que hayan recibido antibióticos en los 8 semanas previas, o diarreas que hayan comenzado 72 hrs luego de haber sido hospitalizado. La búsqueda de sangre oculta en heces puede ser positiva, pero la presencia de sangre macroscópica es infrecuente. La presencia de leucocitos en las heces se evidencia en casi la mitad de los casos.

#### ¿Cuál es la mejor Prueba de Laboratorio para el Diagnóstico?

Hay cinco pruebas disponibles, las que analizaremos a continuación<sup>(42)</sup>:

- PCR en tiempo Real que detecta genes de toxina A y B, altamente sensible y específica. La sensibilidad es mayor que la del enzimoanálisis (EIA) y comparable con el ensayo de citotoxicidad. Adicionalmente el resultado del PCR puede estar disponible en una hora. Sin embargo dada su alta sensibilidad y potenciales falsos negativos, algunos prefieren utilizar un algoritmo junto con otros ensayos como EIA para Glutamato Deshidrogenasa (GDH) y EIA para toxinas A y B.

- Prueba de EIA para GDH de *C. difficile*. La GDH, es una enzima esencial producida constitutivamente por todos los *C. difficile* aislados; su detección no puede distinguir entre cepas toxigénicas y no toxigénicas. Por lo tanto, el test para el antígeno de GDH es útil como un paso inicial de screening en un abordaje secuencial de diagnóstico, en el que se puede incluir ensayos de PCR en muestras que son positivas para GDH. El test es altamente sensible y los resultados están disponibles en menos de una hora.

- Prueba de EIA para toxinas A y B de *C. difficile*. La mayoría de cepas de *C. difficile* producen ambas toxinas A y B, aunque algunas cepas producen solo A ó B. La sensibilidad del EIA para toxinas A y B es cerca al 75%; la especificidad es alta (99%). Hay una tasa relativamente alta de falsos negativos. Para que el test sea positivo la toxina debe tener concentraciones entre 100 a 1000 pg por muestra. Comercialmente son muy accesibles y los resultados están en pocas horas.

- La prueba de citotoxina en cultivo celular, es el 'gold standard' para el diagnóstico de *C. difficile*. Sirve de comparador para el resto de pruebas. Se realiza adicionando una muestra de heces (diluida, tamponada y filtrada) a una monocapa de cultivo celular. Si la toxina de *C. difficile* está presente, ejerce un efecto citopático caracterizado por el redondeo de los fibroblastos en el cultivo de tejido. El ensayo de citotoxicidad es más sensible que los EIA, pero son laboriosos y toman aproximadamente dos días.

- Cultivo anaeróbico selectivo. Para muchos laboratorios es la prueba más sensible y sigue siendo esencial para el

estudio epidemiológico de los brotes, aunque no puede distinguir entre las cepas productoras y no productoras de toxina. Es generalmente lento y laborioso para el rendimiento en la práctica clínica.

Se han propuesto múltiples enfoques para optimizar el diagnóstico en la colitis por *C. difficile*. Sin embargo, si se tiene acceso al uso del PCR, ya sea como prueba única o como parte de un algoritmo (ej: con tamizaje inicial con EIA para GDH, con o sin EIA para toxinas A y B), por su alta sensibilidad y especificidad, sumado a la rápida disponibilidad del resultado, esta prueba permite el aislamiento y tratamiento oportuno de pacientes con infección por *C. difficile*. El diagnóstico y tratamiento oportuno reduce la diseminación nosocomial de la infección y mejora el pronóstico de los pacientes<sup>(42)</sup>.

#### ¿Cuál es el manejo de la Enfermedad producida por *C. difficile*?

El tratamiento de la colitis pseudomembranosa exige el aislamiento del paciente, la suspensión de la antibióticoterapia en curso y la corrección de la inestabilidad hemodinámica (reposición de líquidos y electrolitos), para evitar la disfunción orgánica. De un 20 a 25% de estas colitis se resuelve espontáneamente con estas medidas generales. Cuando no hay respuesta en corto tiempo al tratamiento conservador debe iniciarse inmediatamente tratamiento antibiótico.

Se ha establecido una clasificación según la intensidad de la enfermedad para poder estratificar las recomendaciones de tratamiento para cada caso. En la tabla 1 se presenta la propuesta de la Sociedad de Salud Epidemiológica de Norteamérica (SHEA) y la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de Norteamérica (IDSA) para el tratamiento de la infección por *Clostridium difficile* en adultos. Estas se basaron en opiniones de expertos, las cuales probablemente requieran ser revisadas en el futuro, pero constituyen hasta el momento la forma más estandarizada de definir el grado y el tratamiento correspondiente<sup>(44)</sup>.

Otras opciones para la enfermedad recidivante son la:

- Vancomicina seguida de rifaximina, 400 mg por vía oral 2 veces al día durante 14 días (se ha observado un aumento de la concentración mínima inhibitoria de la rifaximina con esta estrategia).

- Inmunoglobulina i.v., 400 mg/kg de peso corporal una vez cada 3 semanas con un total de 2-3 dosis.

- Tratamiento con probióticos como *Saccharomyces boulardii* (los datos sobre el empleo de *S. boulardii* y de otros probióticos en la prevención de la infección recidivante por *C. difficile* son contradictorios. Los probióticos se han asociado con complicaciones graves en pacientes en inmunosuprimidos y en pacientes en estado crítico, sobre todo los que tienen vías venosas centrales o sondas de alimentación).

**Tabla I**

**RECOMENDACIONES PARA EL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN POR CLOSTRIDIUM DIFFICILE (CDI)**

Definición Clínica	Datos clínicos de apoyo	Tratamiento Recomendado	Fuerza de la Recomendación
<b>Episodio inicial leve o moderado</b>	Leucocitosis con un recuento leucocitario de 15.000 células/mL o menos y un nivel de creatinina en suero <1,5 veces el nivel pre-mórbido	Metronidazol, 500 mg 3 veces por día por boca durante 10 a 14 días	A-I
<b>Episodio inicial grave</b>	Leucocitosis con un recuento leucocitario de 15.000 células/mL o más y un nivel de creatinina en suero mayor o igual a 1,5 veces el nivel pre-mórbido	Vancomicina, 125 mg 4 veces por día por boca durante 10 a 14 días	B-I
<b>Episodio inicial grave, complicado</b>	Hipotensión o choque, íleo, megacolon	Vancomicina, 500 mg 4 veces por día por boca o por sonda nasogástrica, más metronidazol, 500 mg cada 8 horas por vía intravenosa. Si se trata de íleo completo, considere agregar una instilación rectal de vancomicina	C-III
<b>Primera recidiva</b>		Igual que para el episodio inicial	A-II
<b>Segunda recidiva</b>		Vancomicina con un régimen gradual y/o de dosis interrumpidas	B-III

Fuente: Guías de práctica clínica para la infección por *Clostridium difficile* en adultos del 2010. Sociedad de Salud Epidemiológica de Norteamérica (SHEA) y la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de Norteamérica (IDSA)<sup>(44)</sup>

- Trasplante fecal, es una estrategia terapéutica que cada vez tiene más publicaciones a favor de que constituye una opción. Sin embargo aún se necesitan más ensayos controlados para categorizar como recomendación, pero sin duda es una opción en los casos refractarios y en los que parecen no tener alternativas terapéuticas<sup>(45)</sup>.

Algunos pacientes necesitan recibir otros antimicrobianos durante o poco después de finalizar la terapia para la colitis por *C. difficile*, ya sea para completar el tratamiento de la infección para la cual habían estado recibiendo los antibióticos desencadenantes o para tratar una nueva infección incidental<sup>(44)</sup>. Estos pacientes están en alto riesgo de recurrencia y sus complicaciones correspondientes. Muchos médicos prolongan la duración del tratamiento de la colitis en tales casos, hasta después de que se hayan terminado los demás regímenes antimicrobianos. Se desconoce si esto reduce el riesgo de recurrencia de la enfermedad por *C. difficile*, y las guías no ofrecen ninguna recomendación específica, pero si la duración del tratamiento de la colitis es prolongada, la vancomicina oral es el agente preferido, dada la ausencia de niveles terapéuticos del metronidazol en las heces de pacientes que ya no tienen colitis activa.

### Candidiasis Invasiva

Es una afección producida por especies del género *Candida*, constituye una complicación que refleja los enormes adelantos de la tecnología en la atención médica ocurridos en las últimas décadas<sup>(46)</sup>. Los factores de riesgo implicados con más frecuencia incluyen el uso de agentes antibióticos de amplio espectro, el uso de catéteres venosos centrales, la nutrición parenteral, la hemodiálisis de pacientes en UCI, la neutropenia, el uso de dispositivos ortopédicos implantables y la recepción de agentes inmunosupresores (incluidos glucocorticosteroides, agentes de quimioterapia e inmunomoduladores)<sup>(47,48)</sup>.

La candidemia es la cuarta causa más común de infecciones nosocomiales en el torrente sanguíneo en los Estados Unidos y en gran parte del mundo desarrollado<sup>(49,50-51)</sup>.

La candidiasis invasiva tiene un impacto relevante sobre los resultados de los pacientes, y se ha calculado que la mortalidad atribuible a la candidiasis invasiva representa un porcentaje tan alto como un 47% (52), aunque muchos autores calculan que la mortalidad atribuible es de 15% a 25% para adultos y de 10% a 15% para recién nacidos y niños<sup>(53)</sup>.

Existen fundamentalmente tres rutas por las que *Candida* puede llegar al torrente sanguíneo: a través de la barrera mucosa del tracto digestivo, a través de catéter venoso central o procedente de un foco de infección localizada.

La *Candida* es un patógeno con capacidad importante de producción de biopelículas en el interior de la luz de los catéteres vasculares. La penetración puede originarse tanto en el momento de su inserción percutánea como, con una mayor frecuencia, durante las manipulaciones de sus conexiones. La permanencia prolongada de estos catéteres, especialmente si alguna de sus luces se utiliza para la administración de nutrición parenteral o de derivados o fármacos con alto contenido en lípidos, condiciona un riesgo importante de candidemia.

#### ¿Cuáles son las especies de *Candida* principalmente involucradas?

A pesar que *C. albicans* era la causa más común de la candidemia, se ha incrementado el aislamiento de especies no-*albicans* de *Candida* en los últimos años. En un estudio de vigilancia multicéntrico realizado en Estados Unidos entre 2004 y 2008, el 54 por ciento de 2019 hemocultivos fueron *Candida no albicans* spp y 46 por ciento fue *C. albicans*<sup>(54)</sup>. *C. glabrata* fue responsable del 26 % de todos los casos de candidemia, seguido por *C. parapsilosis* (16 %), *C. tropicalis* (8 %), y *C. krusei* (3 %). Otros estudios han mostrado una frecuencia similar<sup>(55,56)</sup>, aunque la incidencia de cada especie varía en diferentes poblaciones de pacientes y regiones geográficas. A modo de ejemplo, en América Latina, las especies más comunes que causan infección del torrente sanguíneo después de *C. albicans* son *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*, siendo *C. glabrata* aislada con menor frecuencia<sup>(57)</sup>.

#### ¿Cuáles son los factores predisponentes?

Los factores de riesgo más significativos para el desarrollo de infección fúngica invasiva pueden dividirse en cuatro: a) colonización previa por *Candida*; b) gravedad de la enfermedad de fondo; c) uso de antibióticos de amplio espectro; y d) factores asociados a la asistencia del paciente crítico.

Aunque potencialmente cualquier antibiótico puede ejercer una selección de patógenos intestinales, parece asociarse más intensamente con antibióticos de mayor espectro y de efecto anaerobioicida. Krcmery y col.<sup>(62)</sup> preconizan que la administración de antibióticos sin efecto anaerobioicida favorecería la colonización por *Candida* spp., mientras que la administración de antibióticos de amplio espectro favorecería la aparición de infecciones por *Aspergillus* spp. Existe alguna evidencia de que el tratamiento con cefalosporinas, en particular ceftriaxona, ocasiona con mayor frecuencia sobrecrecimiento intestinal candidiásico que el uso de aminoglucósidos o imipenem.

#### ¿Cuáles son las formas Clínicas?

La infección invasiva por *Candida* spp. puede ocasionar diferentes formas clínicas de la enfermedad, desde la

manifestación más usual en forma de candidemia, asociada o no con signos y síntomas de candidiasis diseminada hasta el compromiso orgánico invasivo de candidiasis profunda con invasión de uno o más órganos.

Candidemia: se define como el aislamiento de especies de *Candida* patógenas en hemocultivos. Esta simple definición sin embargo no le hace justicia al amplio espectro de las infecciones asociadas con la candidemia. En efecto en pacientes no neutropénicos, la candidemia puede tener un curso benigno o llegar al compromiso de órganos profundos, manifestándose como osteomielitis, endoftalmitis o la invasión de otros órganos profundos. Similarmente, la candidemia en pacientes neutropénicos puede permanecer limitada al torrente sanguíneo (sin complicación) o ser una seria entidad que compromete la vida del paciente, desencadenando candidiasis aguda diseminada, candidiasis crónica o candidiasis profunda de un solo órgano.

La presencia de *Candida* en un hemocultivo nunca debe ser visto como un contaminante y siempre debe motivar la búsqueda de la fuente de la infección en el torrente sanguíneo. Para muchos pacientes, la candidemia es una manifestación de la candidiasis invasiva que podría haberse originado en una variedad de órganos, mientras que para otros, la candidemia se originó a partir de un catéter infectado por vía intravenosa.

En todos los casos, la candidemia requiere tratamiento con un agente antifúngico<sup>(59)</sup>, nunca se debe suponer que la remoción del catéter por sí sola será una terapia adecuada para la candidemia. Varios estudios han señalado las altas tasas de mortalidad asociadas con la candidemia y han demostrado que la mortalidad es mayor en aquellos pacientes que no fueron tratados con un fármaco antifúngico<sup>(59)</sup>. Por otra parte, el inicio precoz de la terapia es crucial.

Candidiasis profunda o diseminada: la mayoría del compromiso orgánico profundo se desarrolla como resultado de candidiasis hematógena no diagnosticada, ocasionalmente pueden surgir como resultado de inoculación directa del hongo en ciertos órganos; un ejemplo es peritonitis que usualmente se desarrolla en pacientes con diálisis peritoneal o secundaria a injuria intestinal. La habilidad para detectar diseminación hematógena e infección profunda es limitada por lo cual es difícil establecer una clara distinción entre las diversas formas de candidiasis invasiva<sup>(58)</sup>.

*Existen además otras formas de Candidiasis asociadas a diferentes factores de riesgo, las cuales son mencionadas en esta revisión sólo a través de la tabla 2, para graficar los diversos escenarios en donde Candida es también causante de patología*<sup>(58)</sup>.

La manifestaciones clínicas tanto de la Candidemia como de la candidiasis diseminada son muy variables, oscilando desde cuadros febriles sin foco aparente hasta un síndrome séptico indistinguible de cualquier infección sistémica bacteriana grave. Si existe diseminación hematógena de la enfermedad pueden afectarse múltiples órganos o vísceras

**Tabla 2**

<b>TIPO DE CANDIDIASIS Y SUS FACTORES PREDISPONENTES</b>	
<b>Tipo de Candidiasis</b>	<b>Principales Factores de Riesgo</b>
Hematógena (Candidemia)	Colonización: antibioticoterapia de amplio espectro y estancia hospitalaria prolongada
Orofaringea	Inmunosupresión sistémica (las mismas que en Candidemia) Inmunosupresión local: radioterapia en cáncer de cabeza y cuello, uso de corticoides inhalados Factores locales: prótesis dentales, especialmente las mal ajustadas.
Esofágica	Inmunosupresión sistémica (las mismas que en candidemia)
Vulvovaginal	Colonización: uso de antibióticos Inmunosupresión sistémica: VIH, diabetes mellitus, corticoides sistémicos. Otros: contraceptivos orales, gestación
Piel y uñas	Factores locales: humedad, inmersión de manos en agua, enfermedad vascular periférica.
Cutánea Congénita	Inmunosupresión: prematuridad Factores locales: madre con cuerpo extraño intraútero
Tracto Urinario	Inmunosupresión sistémica: Diabetes mellitus
Endocarditis	Factores locales: cirugía mayor, historia de endocarditis bacteriana o enfermedad valvular; presencia de prótesis valvular o catéter venoso central de larga permanencia. Otros: Abuso de drogas intravenosas
Pericarditis	Inmunosupresión sistémica Cirugía torácica
CNS	Inoculación directa: cirugía del SNC, comunicación ventrículo-peritoneal
Ocular	Inoculación directa: cirugía ocular o trauma
Huesos y articulaciones	Inoculación directa: cirugía, trauma o inyecciones intraarticulares. Infección de pie diabético
Abdominal	Factores locales: trasplante de órgano sólido, perforación recurrente, cirugía abdominal repetida, dehiscencias anastomóticas, pancreatitis, diálisis peritoneal continua. Inmunosupresión sistémica: trasplante de órgano sólido

Fuente: Clinical Mycology Second Edition. 2009

(ojos, riñones, válvulas cardíacas o cerebro), produciendo síntomas asociados con dichas ubicaciones. En el examen físico es fundamental la evaluación del estado hemodinámico, para valorar la gravedad de la sepsis, y la comprobación de la existencia de lesiones oculares compatibles con endoftalmitis (mediante examen oftalmológico practicado por un especialista) o lesiones cutáneas características.

La frecuencia del compromiso ocular en pacientes con candidemia es variable, oscilando entre un 2% y un 25% en diferentes estudios<sup>(63)</sup>.

El compromiso cutáneo característico de la candidemia, puede aparecer tanto en sujetos neutropénicos como en aquellos sin neutropenia asociada. Estas lesiones

suelen aparecer de forma súbita y generalmente son agrupaciones de pústulas no dolorosas sobre una base eritematosa, con una distribución difusa o localizada en una o varias regiones del cuerpo. El tamaño de las lesiones pueden ser puntiformes, pudiendo pasar desapercibidas a la exploración física, hasta nodulares de varios centímetros de diámetro con necrosis central. En los pacientes con neutropenia profunda las lesiones tienden a ser maculares en lugar de pustulosas. El reconocimiento de las lesiones cutáneas compatibles con candidiasis diseminada es importante para el diagnóstico. Es posible ver y/o aislar la levaduras en las lesiones mediante el examen histológico y el cultivo del material obtenido por punción o raspado de las mismas. En los pacientes con hemocultivos negativos, sin embargo, el compromiso cutáneo se presenta en menos del 10% de los pacientes<sup>(64)</sup>.

Además de estas manifestaciones periféricas características de la candidemia, los enfermos pueden tener signos de falla de múltiples órganos. En los exámenes de necropsia de fallecidos por candidiasis se observa generalmente una diseminación de la infección, ocasionando microabscesos en múltiples vísceras, en especial en riñones, corazón, hígado, bazo, pulmones, ojos y SNC.

#### ¿Cómo se hace el diagnóstico?

La tasa de diagnóstico de la candidiasis diseminada antes del fallecimiento es muy baja. Solo en alrededor del 15-40% de los casos se establece un diagnóstico lo bastante precoz como para instalar el tratamiento adecuado. Los hemocultivos siguen siendo la mejor técnica para el diagnóstico de una candidemia, sin embargo su sensibilidad global no supera el 40%. De allí la importancia de tener la sospecha diagnóstica en función de los factores de riesgo y la estratificación de los pacientes para tomar la decisión de tratar.

En los últimos años se han publicado diversos estudios que han evaluado escalas de estratificación del riesgo para padecer una candidemia, en el que se incluyen el uso de antibióticos de amplio espectro, la colonización previa de *Candida* spp., la cirugía reciente o la hemodiálisis. En el más reciente de ellos, denominado "Puntuación (score) de *Candida*" desarrollado en España, los cuatro factores independientes fueron: sepsis clínica (2 puntos), cirugía reciente abdominal (1 punto), uso de nutrición parenteral (1 punto) y colonización multifocal (1 punto). Un valor superior a 2,5 puntos tiene una sensibilidad del 81% y una especificidad del 74% para identificar a pacientes con posibilidad de tener una candidiasis invasiva<sup>(65)</sup>.

Algunas técnicas de detección de antígenos se han convertido en herramientas básicas en el laboratorio de microbiología clínica, como la detección del antígeno capsular de *Cryptococcus neoformans* y la detección de galactomanano en infecciones por algunos hongos filamentosos. De la misma forma se cuenta en el mundo con la detección de (1-3)- $\beta$ -D-glucano<sup>(60)</sup>, componente no antigénico de la pared celular de la mayoría de los hongos patógenos con excepción de *Cryptococcus* y *zigomicetos*. Su presencia puede detectarse en suero mediante el método Fungitell (Associates of Cape Cod Inc., EE.UU.) que posee un sensibilidad del 64,4-87,5%, una especificidad del 92,4-89,6%, un valor predictivo positivo del 89-70% y un valor predictivo negativo del 73-96,3% en el diagnóstico de la enfermedad fúngica invasiva si se emplea un punto de corte de 80 pg/mL o 160 pg/mL, respectivamente<sup>(60)</sup>. Es una técnica panfúngica que permite detectar infecciones por *Aspergillus*, *Candida*, *Fusarium*, *Acremonium*, *Scedosporium* y *Pneumocystis jirovecii*. La detección de (1-3)- $\beta$ -D-glucano se considera un criterio microbiológico de micosis invasiva probable en las nuevas definiciones de la EORTC-MSG<sup>(61)</sup>. La prueba aún no está disponible en nuestro medio y la accesibilidad en el mundo por su costo es aún limitada.

Tan importante como diagnosticar o sospechar una candidemia o una candidiasis diseminada es conocer la especie

de *Candida* spp involucrada, por lo cual conocer la epidemiología local constituye una herramienta fundamental en la sospecha diagnóstica que se traducirá posteriormente en la decisión terapéutica más adecuada.

#### ¿Cuál es el Pronóstico de la Candidiasis Invasiva?

La mortalidad es muy elevada, actualmente puede superar el 40%. Sin embargo, en dicha mortalidad está incluida la asociada a las enfermedades de fondo que padecen muchos de los pacientes infectados. La mortalidad atribuible, evaluada en diferentes estudios recientes, se ha situado en valores que oscilan entre un 10% y alrededor de un 50% cifras que se han mantenido estables desde hace más de 30 años.

El Impacto de la terapia adecuada sobre la mortalidad atribuible a la Candidemia es relevante. En un estudio realizado por Morrell<sup>(66)</sup> se ha comprobado que un retraso superior a las 12 horas, tras la extracción de la sangre del primer hemocultivo positivo, en la administración de un tratamiento antifúngico adecuado es un factor predictor independiente de mortalidad hospitalaria. La estratificación de los pacientes según el valor de APACHE II, en valores superiores e inferiores a 15, demostró igualmente un claro beneficio protector de la terapia precoz antifúngica adecuada. En otros estudios<sup>(67)</sup> se ha comprobado cómo el retraso de 24 ó 48 horas en el inicio del tratamiento adecuado se asoció de forma independiente con la mortalidad de la candidemia. En diferentes estudios poblacionales se ha observado cómo la administración de tratamiento antifúngico adecuado durante al menos 5 ó 7 días, asociado al retiro de catéteres vasculares en alguno de ellos, tiene una relación estadísticamente significativa con la disminución de la mortalidad atribuible y tardía de la candidemia<sup>(68)</sup>.

#### ¿Cuál es el Tratamiento de la Candidemia?

Es cierto que algunos episodios de candidemia pueden ser transitorios y autolimitados, pero no existe posibilidad de discernir cuál de ellos se asociará a complicaciones tardías a distancia tales como endocarditis, osteomielitis o endoftalmiitis. Por ello debe tratarse siempre por vía intravenosa a todos los pacientes con candidemia, y su inicio debe ser precoz dado que el retraso del mismo se asocia a una mayor mortalidad<sup>(66)</sup>.

Existen diversas opciones eficaces para el tratamiento de la candidemia que incluyen fluconazol, anfotericina deoxicolato, alguna formulación lipídica de anfotericina B, voriconazol o una equinocandina (casposfungina, anidulafungina y micafungina). Un primer aspecto es conocer la actividad de estos fármacos frente a las diversas especies de *Candida* (Tabla 3). Anfotericina B sigue siendo el patrón de referencia y es activa para todas las especies de *Candida*, quizás con excepción de *C. lusitaniae*, especie con muy baja presencia en todas las series. Fluconazol no es activo frente a *C. krusei* y puede no serlo frente a *C. glabrata* o requerir altas dosis, lo que se conoce como sensibilidad dosis dependiente (SDD). Globalmente el 15% de todas las candidas son resistentes a fluconazol.

**Tabla 3**

**PATRONES DE SUSCEPTIBILIDAD DE LAS ESPECIES DE CANDIDA**

Especie	Fluconazol	Itraconazol	Voriconazol	Posaconazol	Flucitosina	AnfotericinaB	Candinas
<i>C. albicans</i>	S	S	S	S	S	S	S
<i>C. tropicales</i>	S	S	S	S	S	S	S
<i>C. parapsilosis</i>	S	S	S	S	S	S	S a R <sup>a</sup>
<i>C. glabrata</i>	S-DD a R	S-DD a R	S-DD a R	S-DD a R	S	S a I	S
<i>C. krusei</i>	R	S-DD a R	S	S	I a R	S a I	S
<i>C. lusitaniae</i>	S	S	S	S	S	S a R	S

Fuente: Guías de tratamiento de la candidiasis. IDSA 2009o 2009;48:T1-T35

Nota: I, susceptibilidad intermedia; R, resistente; S, susceptible; S-DD: susceptible dependiente de la dosis. <sup>a</sup>La resistencia a las equinocandinas en las cepas aisladas de *C. parapsilosis* es poco frecuente.

Por otro lado, las equinocandinas, son fármacos fungicidas frente a todas las especies de *Candida*, aunque hay que conocer que las concentraciones mínimas inhibitorias son más elevadas para *C. parapsilosis* que para el resto de las especies, aunque este hecho parece no tener trascendencia clínica.

Un segundo aspecto son los efectos adversos asociados al uso de fármacos. Anfotericina B deoxicolato se asocia a graves efectos adversos tales como reacciones asociadas a la infusión (fiebre, escalofríos, etc), trastornos metabólicos (hipocalcemia e hipomagnesemia) y sobre todo falla renal, cuyo desarrollo se asocia a una elevada mortalidad y a un aumento de la estancia hospitalaria en más de 8 días, lo que conlleva un elevado costo.

En cuanto a las formulaciones lipídicas disponibles, la anfotericina B liposomal se asocia a una menor tasa de efectos adversos relacionados con la infusión y a más baja incidencia de falla renal que la anfotericina B complejo lipídico<sup>(69)</sup>.

Con el empleo de azoles puede observarse elevación transitoria de las enzimas hepáticas. El efecto adverso más frecuente con el empleo de voriconazol es la alteración de la vista (visión borrosa, alteración en la visión de colores) que pueden aparecer hasta en el 30% de los pacientes y desaparecen de forma constante tras suspender el tratamiento.

Voriconazol no es nefrotóxico, pero no se recomienda la forma intravenosa en pacientes con alteración de la función renal (creatinina sérica > 2,5 mg/dl) por posible acumulación del excipiente empleado<sup>(70)</sup>. El empleo de equinocandinas se asocia a elevación de las enzimas hepáticas, lo cual ocurre más frecuentemente con caspofungina que con anidulafungina o micafungina<sup>(71)</sup>.

La elección de la terapia inicial de un paciente con candidemia cuando aún no se ha identificado la especie vendrá condicionada por la situación clínica del paciente, la presencia de neutropenia y la exposición previa fluconazol.

Hoy en día, en el paciente no neutropénico, fluconazol constituye la primera opción de tratamiento para los casos sin

signos de sepsis grave y que no hayan recibido azoles previamente. Si hay presencia de sepsis grave, es decir disfunción de al menos un órgano o ha recibido previamente profilaxis o tratamiento con azoles, la primera opción a emplear es una equinocandina, constituyendo la alternativa anfotericina B liposomal (3 mg/kg/día). El tratamiento debe prolongarse 14 días tras la negativización del hemocultivo. Una vez que el paciente está estable, y si se aísla una *Candida* spp. sensible a fluconazol, puede completarse el tratamiento con ese azol. Voriconazol no es considerado como tratamiento de primera línea de la candidemia y puede utilizarse para completar el tratamiento una vez identificada la especie. En el caso de tratarse de *C. glabrata* debemos confirmar antes de su uso que la cepa aislada sea sensible a este azol<sup>(72)</sup>.

Si el paciente presenta neutropenia, la primera opción a emplear es una equinocandina pero sólo, hasta la actualidad, caspofungina y micafungina tienen indicación para su uso en el paciente neutropénico. En este caso, la alternativa es igualmente anfotericina B liposomal (3 mg/kg/día).

En el caso de candidemia del paciente no neutropénico se debe siempre retirar el catéter endovenoso central<sup>(73)</sup>. En el caso de neutropenia, esta recomendación es discutida y hay que tener en cuenta además que con frecuencia en estos pacientes existen trastornos de coagulación asociados, generalmente por trombocitopenia grave.

#### ¿Qué hacer si la sospecha es de candidiasis invasiva?

En el caso de pacientes con sospecha de infección profunda por *Candida* spp. pero sin diagnóstico de candidemia u otra infección fúngica invasiva. Se trata generalmente de pacientes con aislamiento de *Candida* spp. en lugares no estériles (orina, drenajes, secreciones respiratorias, etc.) junto con factores de riesgo y con signos clínicos de infección. En este contexto se plantea lo que denominamos *tratamiento antifúngico empírico*.

Existe el grupo de pacientes no neutropénicos con colonización múltiple, con factores de riesgo pero sin cuadro clínico y sin diagnóstico de infección invasiva. Si este grupo se

beneficia del tratamiento antifúngico "anticipado" es una de las cuestiones aún no resueltas.

La Guía Clínica de la Infectious Diseases Society of America en el 2009 reconoce que éste es un problema no resuelto, y recomienda tratamiento antifúngico en pacientes con fiebre, ausencia de otros focos, factores de riesgo y colonización por *Candida* spp. o marcadores serológicos de candidiasis invasiva<sup>(74)</sup>.

El solo hecho de presentar colonización por *Candida* spp. no significa que debamos iniciar tratamiento, por lo que se debe precisar qué pacientes se beneficiarían de iniciar tratamiento antifúngico<sup>(75)</sup>. Para ello es importante tener en

cuenta la "*Puntuación de Cándida o Score de Candida*". La puntuación > 2,5 (en pacientes con colonización) predice una infección por *Candida* con una sensibilidad del 81% y especificidad del 74%<sup>(65)</sup>.

En estos casos el tratamiento antifúngico a utilizar es similar a lo descrito para candidemia. Es posible contar con los aislamientos de *Candida* spp. en diversas localizaciones, gracias a los cultivos de vigilancia que exige la "Puntuación de Cándida", y si la especie ya está identificada nos permitirá elegir el fármaco más adecuado, conociendo las resistencias que exhiben las distintas especies a los fármacos disponibles así como los datos de la epidemiología local.

### Referencias bibliográficas

1. **Barlett JG.** Antibiotic-associated diarrhea. Clin Infect Dis 1992;15:573-581.
2. **Dallal RM, Harbrecht BG, Boujoukas AJ, et al.** Fulminant *Clostridium difficile*: an underappreciated and increasing cause of death and complications. Ann Surg 2002;235:362-372.
3. **Kelly CP, Pothoulakis C, Lamont JT.** *Clostridium difficile* colitis. N Engl J Med 1994;330:257-262.
4. **Loo VG, Poirier L, Miller MA, et al.** A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with High morbidity and mortality. N Engl J Med 2005;353:2442-2449.
5. **Levine J, Dykoski RK, Janoff EN.** *Candida*-associated diarrhea: a syndrome in search of credibility. Clin Infect Dis 1995;21:881-886.
6. **Asha NJ, Wilcox MH.** Laboratory diagnosis of *Clostridium perfringens* antibiotic-associated diarrhoea. J Med Microbiol 2002;51:891-894.
7. **Neal KR, Briji SO, Slack RC, et al.** Recent treatment with H2 antagonists and antibiotics and gastric surgery as risk factors for *Salmonella* infection. BMJ 1994;308:176.
8. **Olsen SJ, DeBess EE, McGiven TE, et al.** A nosocomial outbreak of fluoroquinolone-resistant *Salmonella* infection. N Engl J Med 2001;344:1572-1579.
9. **Hove H, Tvede M, Mortensen PB.** Antibiotic-associated diarrhoea, *Clostridium difficile*, and short-chain fatty acids. Scand J Gastroenterology 1996;31:688-693.
10. **Fekety R.** Staphylococcal diarrhea and enterocolitis. In: Crossley KB, Archer GI, editors. The Staphylococci in Human Disease. New York: Churchill Livingstone; 1997:545-563.
11. **Barlett JG, Gorbach SL.** Pseudomembranous enterocolitis (antibiotic-related colitis). Adv. Intern Med 1977;22:455-476.
12. **Willis TA.** Historical aspects. In: Rolfe RD, Finegold SM, editors. *Clostridium difficile*: Its Role in Intestinal Disease. San Diego: Academic Press; 1988:15-28.
13. **Lusk RH, Fekety FR Jr, Silva J Jr, et al.** Gastrointestinal side effects of clindamicina and ampicillin therapy. J Infect Dis 1977;135 (Supple),S111-9.
14. **Barlett JG, Chang TW, Gurwith M, et al.** Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia. N Engl J Med 1978;298:531-534.
15. **Hall IC, O'Toole E.** Intestinal flora in new-born infants. Am J Dis Child 1935;49:390-402.
16. **Thielman NM, Guerrant RL.** *Clostridium difficile* and its toxins. IN: Moss J, Iglewski B, Vaughn M, Tue AT, editors. Bacterial Toxins and Virulence Factors in Disease. New York: Marcel Dekker; 1995:327-366.
17. **Tasteyre A, Barc MC, Karjalainen T, et al.** A *Clostridium difficile* gene encoding flagelin. Microbiology 2000;146:957-966.
18. **Pechine S, Janoir C, et al.** Variability of *Clostridium difficile* surface proteins and specific serum antibody response in patients with *Clostridium difficile*-associated disease. J Clin Microbiol 2005;43:5018-5025.
19. **Karjalainen T, Saumier N, Barac MC, et al.** *Clostridium difficile* genotyping based on *slpA* variable region in S-layer gene sequence: an alternative to serotyping. J Clin Microbiol 2002;40:2452-2458.
20. **Bauer MP, Goohuis A, et al.** Community-onset *Clostridium difficile*-associated diarrhea not associated with antibiotic usage-two case reports with review of the changing epidemiology of *Clostridium difficile*-associated diarrhea. Netherlan J Med 2008;66:207-211.
21. **Moore WEC, Holdeman LV.** Human fecal flora: the normal flora of 20 Japanese-Hawaiians. Appl Microbiol 1974;27:961-979.
22. **Akerlund T, Svenungsson B, Lagergren A, et al.** Correlation of disease severity with fecal toxin levels in patients with *Clostridium difficile*-associated diarrhea and distribution of PCR ribotypes and toxin yields in Vitro of corresponding isolates. J Clin Microbiol 2006;44:353-358.
23. **Adams DA, Riggs MM, Donskey CJ.** Effect of fluoroquinolone treatment on growth of and toxin production by epidemic and non-epidemic *Clostridium difficile* strains in the cecal contents of mice. Antimicrob Agents Chemother 2007;51:2674-2678.

24. **Gerber M, Walch C, Loffler B, et al.** Effect of sub-MIC concentration of metronidazole, vancomicina, clindamicina and linezolid on toxin gene transcription and production in *Clostridium difficile*. *J Med Microbiol* 2008;57:776-783.
- Von Eichel-Streiber C, Laufenberg-Feldmann R,**
25. **Sartingen S, et al.** Comparative sequence analysis of the *Clostridium difficile* toxins A and B. *Mol Gen Genet* 1999;233:260-268.
26. **Lyerly DM, Krivan HC, Wilkins TD.** *Clostridium difficile*: its disease and toxins. *Clin Microbiol Rev* 1988;1:1-18.
27. **Tucker KD, Wilkins TD.** Toxin A of *Clostridium difficile* binds to the human carbohydrates antigen I, X, and Y. *Infect Immun* 1991;59:73-78.
28. **Smith JA, Cooke DL, Hyde S, et al.** *Clostridium difficile* toxin A binding to human intestinal epithelial cells. *J Med Microbiol* 1997;46:953-958.
29. **Hippenstiel S, Kratz T, Krull M, et al.** Rho proteina inhibition blocks proteina kinase C translocation and activation. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;245:830-834.
30. **Souza MH, Melo-Filho AA, Rocha MF, et al.** The involvement of macrophage-derived tumour necrosis factor and lipoxigenase products on the neutrophil recruitment induced by *Clostridium difficile* toxin B. *Immunology* 1997;91:281-288.
31. **Geric B, Carman RJ, et al.** Binary toxin producing, large clostridial toxin-negative *Clostridium difficile*-associated diarrhea Straits are enterotoxic but do not cause disease in hamsters. *J Infect Dis* 2006;193:1143-1150.
32. **Gerding DN, Olson MM, Peterson LR, et al.** *Clostridium difficile* associated diarrhea and colitis in adults: a prospective case controlled epidemiologic study. *Arch Intern Med* 1986;146:95-100.
33. **Anand A, Glatt AE.** *Clostridium difficile* infection associated with antineoplastic chemotherapy: a review. *Clin Infect Dis* 1993;17:109-113.
34. **Moskovits M, Barlett JG.** Recurrent pseudomembranous colitis unassociated with prior antibiotic therapy. *Arch Intern Med* 1981;141:663-664.
35. **Hutin Y, Molina JM, Casin I, et al.** Risk Factors for *Clostridium difficile*-associated diarrhoea in HIV- infected patients. *AIDS* 1993;7:1441-1447.
36. **Rolfe R, Iaconis JP.** Intestinal colonization of infant hamsters with *Clostridium difficile*. *Infect Immun* 1983;42:480-486.
37. **Rodríguez-Palacios A, Stampfli HR, et al.** *Clostridium difficile* PCR ribotypes in calves, Canada. *Emerging Infectious Diseases* 2006;12:1730-1736.
38. **Rodríguez-Palacios A, Stampfli HR, et al.** *Clostridium difficile* in retail ground meat. Canada. *Emerg Infect Dis* 2007;13:485-487.
39. **McFarland LV, Mulligan Me, Kwok RY, et al.** Nosocomial acquisition of *Clostridium difficile* infection. *N Engl J Med* 1989;320:204-210.
40. **Wilson KH, Sheagren JN.** Antagonismo of toxigenic *Clostridium difficile* by nontoxigenic *Clostridium difficile*. *J Infect Dis* 1983;147:733-736.
41. **Loo VG, Poirier L, Miller MA, et al.** A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality. *N Engl J Med* 2005;353:2442-2449.
42. **Novak-Weekley SM, Marlowe EM, Miller JM, et al.** *Clostridium difficile* testing in the clinical laboratory by use of multiple testing algorithms. *J Clin Microbiol* 2010; 48:889.
43. **Do AN, Fridkin SK, Yechouron A, et al.** Risk factors for early recurrent *Clostridium difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 1998;26:954-959.
44. **Stuart H. Cohen, MD; Dale N. Gerding, MD, et al.** Guías de práctica clínica para la infección por *Clostridium difficile* en adultos- 2010. Sociedad de Salud Epidemiológica de Norteamérica (SHEA) y la Sociedad de Enfermedades Infecciosas de Norteamérica (IDSA). 2010; 31: T1-T28.
45. **Guo B, Harstall C, Louie T, Veldhuyzen van Zanten S, Dieleman LA.** Systematic review: faecal transplantation for the treatment of *Clostridium difficile*-associated disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2012;35:865-875.
46. **Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB.** Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004;39:309-317.
47. **Pappas PG, Rex JH, Lee J, et al.** A prospective observational study of candidemia: epidemiology, therapy, and influences on mortality in hospitalized adult and pediatric patients. *Clin Infect Dis* 2003;37: 634-643.
48. **Viscoli C, Girmenia C, Marinus A, et al.** Candidemia in cancer patients: a prospective, multicenter surveillance study by the Invasive Fungal Infection Group (IFIG) of the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). *Clin Infect Dis* 1999; 28:1071-1079.
49. **Wisplinghoff H, Bischoff T, Tallent SM, Seifert H, Wenzel RP, Edmond MB.** Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin Infect Dis* 2004;39:309-317.
50. **Marchetti O, Bille J, Fluckiger U, et al.** Epidemiology of candidemia in Swiss tertiary care hospitals: secular trends, 1991-2000. *Clin Infect Dis* 2004;38:311-320.
51. **Richet H, Roux P, Des Champs C, Esnault Y, Andremont A.** Candidemia in French hospitals: incidence rates and characteristics. *Clin Microbiol Infect* 2002;8:405-412.
52. **Gudlaugsson O.** Attributable mortality of nosocomial candidemia, revisited. *Clin Infect Dis* 2003;37:1172-1177.
53. **Zaoutis TE, Argon J, Chu J, Berlin JA, Walsh TJ, Feudtner C.** The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in the United States: a propensity analysis. *Clin Infect Dis* 2005;41:1232-1239.
54. **Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ.** Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin Infect Dis.* 2009;48(12):1695.
55. **Messer SA, Jones RN, Fritsche TR.** International surveillance of *Candida* spp. and *Aspergillus* spp.: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2003). *J Clin Microbiol.* 2006;44(5):1782.

56. Trofa D, Gácsér A, Nosanchuk JD. Candida parapsilosis, an emerging fungal pathogen. *Clin Microbiol Rev*. 2008;21(4):606.
57. Nucci M, Queiroz-Telles F, Tobón AM, Restrepo A, Colombo AL. Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America. *Clin Infect Dis*. 2010;51(5):561.
58. Anaissie E, McGinnis M, Pfaller M. *Clinical Mycology*. Second Edition, Elsevier Inc. 2009:203.
59. Nguyen MH, Peacock JE Jr, Tanner DC, Morris AJ, Nguyen ML, Snyderman DR, Wagener MM, Yu VL. Therapeutic approaches in patients with candidemia. Evaluation in a multicenter, prospective, observational study. *Arch Intern Med*. 1995;155(22):2429.
- Ostrosky-Zeichner L, Alexander BD, Kett DH, Vázquez J.
60. Pappas PG, Saeki F, et al. Multicenter clinical evaluation of the (1-3)- $\beta$ -D-glucan assay as an aid to diagnosis of fungal infections in humans. *Clin Infect Dis*. 2005;41:654-659.
61. De Pauw PB, Walsh TJ, Donnelly JP, Stevens DA, Edwards JE, Calandra T et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and Infectious Diseases Mycosis Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis*. 2008;46:1813-1821.
62. Krcmery V Jr., Matejicka F, Pichnova E, Jurga L, Sulcova M, Kunova A, et al. Documented fungal infections alter prophylaxis or therapy with wide spectrum antibiotics: relationship between certain fungal pathogens and particular antimicrobials? *J Chemother*. 1999;11:385-390.
63. Kannangara S, Shindler D, Kunitomo DY, Sell B, DeSimone JA. Candidemia complicated by endophthalmitis: a prospective analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2007;26:839-841.
64. Pappas PG. Invasive candidiasis. *Infect Dis Clin North Am*. 2006;20:485-506.
65. León 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;34:730-737.
66. 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;49:3640-3645.
- Garroute-Orgeas M, Timsit JF, Tafflet M, Misset B.
67. Zahar JR, Soufir L, et al. Excess risk of death from intensive care unit-acquired nosocomial bloodstream infections: a reappraisal. *Clin Infect Dis*. 2006;42:1118-1126.
68. Morgan J, Meltzer MI, Plikaytis BD, Sofair AN, Huie-White S, Wilcox E, 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;26:540-547.
- Garnacho Montero J, León Gil C, Almirante Gragera B.
69. Alvarez Lerma F, Cuenca Estrella M, García Rodríguez JA, et al. Recomendaciones terapéuticas en el paciente crítico no neutropénico. *Medicina Intensiva*. 2005;Supl.3(1):43-52.
70. Johnson LB, Kauffman CA. Voriconazole: a new triazole antifungal agent. *Clin Infect Dis*. 2003;36:630-637.
71. Cappelletty D, Eiselstein-McKittrick K. The equiconocandins. *Pharmacotherapy*. 2007;27:369-388.
72. Magill SS, Shields C, Sears CL, Choti M, Merz WG. Triazole cross-resistance among Candida spp: case report, occurrence among bloodstream isolates, and implications for antifungal therapy. *J Clin Microbiol*. 2006;44:529-535.
73. Almirante B, Rodríguez D, Park BJ, Cuenca-Estrella M, Planes AM, Almela M, Mensa J. Barcelona Candidemia Project Study Group. 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;43:1829-1835.
74. Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK Jr, Calandra TF, Edwards JE Jr, Filler SG, Fisher JF, Kullberg BJ, Ostrosky-Zeichner L, Reboli AC, Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. 2009 Mar 1;48(5):503-535.
75. Ostrosky-Zeichner L, Pappas PG. Invasive candidiasis in the intensive care unit. *Crit Care Med*. 2006;34(3):857-863.