



UNIVERSIDAD PERUANA  
**CAYETANO HEREDIA**

“FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS Y  
MORTALIDAD EN CANDIDEMIAS DE  
PACIENTES ONCOLÓGICOS EN UN CENTRO  
DE REFERENCIA EN PERÚ”

TESIS PARA OPTAR EL GRADO DE MAESTRO  
EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN  
EPIDEMIOLÓGICA

FREDDY GENRRI VILLANUEVA COTRINA

LIMA – PERÚ

2023



ASESOR

Dr. Andrés Guillermo Lescano Guevara

**JURADO DE TESIS**

Dr. German Felipe Alvarado Cutipa Flores

PRESIDENTE

Dr. Jesús Humberto Tamariz Ortiz

VOCAL

Dra. Coralith Marlinda García Apac

SECRETARIA

## **DEDICATORIA**

A mis padres, Tomas y Eustalia

A mis hermanos, Lucy y Omar

A mi primo Silverio Q.E.P.D

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi mentora, Vilma Béjar Castillo

A mi asesor y amigo, Andrés G. (Willy) Lescano

Programa de Becas de la Agencia Belga al Desarrollo – CTB.  
Gobierno de Bélgica

## **FUENTES DE FINANCIAMIENTO**

Tesis autofinanciada

# FORMACIÓN DE BIOPELÍCULAS Y MORTALIDAD EN CANDIDEMIAS DE PACIENTES ONCOLÓGICOS EN UN CENTRO DE REFERENCIA EN PERÚ

## INFORME DE ORIGINALIDAD



## FUENTES PRIMARIAS

1	Marta Targalska, Alina Kunicka-Styczyńska. "Chapter 2 Candida Biofilms: Environmental and Clinical Aspects", IntechOpen, 2018 Publicación	1%
2	academic.oup.com Fuente de Internet	1%
3	uvadoc.uva.es Fuente de Internet	<1%
4	Submitted to University of New South Wales Trabajo del estudiante	<1%
5	jlbsr.org Fuente de Internet	<1%
6	www.ideals.illinois.edu Fuente de Internet	<1%
7	baek-hospital.co.kr Fuente de Internet	<1%

[www.journal.atmph-specialissues.org](http://www.journal.atmph-specialissues.org)

# TABLA DE CONTENIDOS

RESUMEN  
ABSTRACT

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN.....	3
II.1 Planteamiento del problema.....	3
II.2 Justificación.....	5
III. MARCO TEÓRICO.....	6
III.1 Biopelículas en Candida: Definición, formación, estructura y propiedades.....	6
III.2 Biopelículas en Candida e implicancias clínicas: Rol en la candidemia, resistencia antifúngica y ensayos para su detección <i>in vitro</i> .....	7
IV. OBJETIVOS.....	11
IV.1 Objetivo general.....	11
IV.2 Objetivos secundarios.....	11
V. METODOLOGÍA.....	12
V.1 Diseño del estudio.....	12
V.2 Diseño muestral.....	12
V.2.1 Población.....	12
V.2.2 Criterios de inclusión.....	13
V.2.3 Criterios de exclusión.....	13
V.3 Muestreo.....	14
V.3.1 Tipo de muestreo.....	14
V.4 Procedimientos y técnicas.....	14
V.4.1 Tamizaje y enrolamiento.....	14
V.4.2 Recolección de datos.....	14
V.4.3 Procesamiento de muestra biológicas.....	15
V.4.4 Supervisión y monitorización de actividades.....	17
V.5 Operacionalización de variables.....	18
V.5.1 Variable desenlace y co-variable principal.....	18
V.5.2 Otras co-variables relevantes.....	19
V.6 Consideraciones éticas.....	20
V.7 Plan de análisis.....	20
V.7.1 Tamaño de muestra y potencia estadística.....	20
V.7.1.1 Calculo de la potencia estadística.....	20
V.7.2 Procesamiento y análisis estadístico.....	22
VI. RESULTADOS.....	24
VII. DISCUSIÓN.....	32
VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	39
IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40

## RESUMEN

**Introducción.** La candidemia, micosis invasiva más frecuentes a nivel mundial, ha duplicado su incidencia en las últimas décadas y tiene una alta tasa de mortalidad, sobre todo en pacientes con cáncer que presentan frecuentemente estados de inmunosupresión. Además, las características intrínsecas de cada levadura infectante de *Candida* puede influir en el desarrollo y curso clínico de la enfermedad. Algunas cepas de *Candida* tienen la capacidad de producir biopelículas lo que constituye un mecanismo que limita la acción de los agentes antifúngicos y la respuesta inmune del huésped. Existen conocidos factores de riesgo asociados a la mortalidad de estas micosis invasivas; sin embargo, hay evidencia limitada y contradictoria sobre el rol de la formación de biopelículas y el riesgo de muerte. **Pregunta de investigación.** ¿Los pacientes con candidemia causada por cepas formadoras de biopelículas presentan mayor mortalidad que los pacientes con candidemia causada por cepas no formadoras de biopelículas?

**Materiales y métodos.** Se realizó un estudio de cohorte retrospectiva. Se estudiaron 140 casos de candidemia diagnosticadas en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) entre junio del 2015 y octubre del 2017. Los datos fueron recogidos de las historias clínicas y los registros del Laboratorio de Microbiología del INEN. Además, se realizó el ensayo de producción de biopelículas en las cepas recolectadas durante el periodo de estudio. Se hizo el seguimiento de los casos a partir del diagnóstico de candidemia durante 30 días hasta la muerte o alta médica. Se estimó el Hazard Ratio (HR) de muerte como medida de asociación entre la formación de biopelículas y la mortalidad mediante el análisis de regresión de Cox bivariado y de múltiples variables. En el análisis



se considero potenciales variables confusoras y el nivel de significancia fue de  $p < 0.05$ . **Resultados.** En el primer día de seguimiento post diagnóstico se observó una muy alta mortalidad (17/21=81.0%) entre los pacientes que no fueron tratados ni con antifúngicos ni con antibacterianos. El alto nivel de formación de biopelículas mostró asociación a un mayor riesgo instantáneo de muerte (HR 3.92;  $p=0.022$ ) y no se modificó al ajustar por otras covariables (HR 6.59;  $p=0.003$ ). Además, el riesgo instantáneo de muerte se encontró asociado a una mayor edad (16–59 años con HR 4.27;  $p=0.003$  y 60+ años con HR 5.88;  $p=0.001$  comparados a 0-15 años), presencia de alguna comorbilidad (HR 2.72;  $p=0.001$ ) y procedencia de la emergencia hospitalaria (HR 7.58;  $p<0.001$ ). **Conclusiones.** La consistencia de la asociación observada entre la candidemia con formación de biopelículas *in vitro* y un mayor riesgo de muerte es un nivel más de evidencia de una posible asociación causal. El análisis de sobrevida permitió asegurar una adecuada evaluación del real riesgo de muerte que tenían los pacientes desde su ingreso a la cohorte. La adultez, tener más 15 años, la presencia de comorbilidades y la procedencia de la emergencia hospitalaria representaron la condición clínica frágil de los pacientes asociándose a un mayor riesgo de muerte.

**Palabras clave:** Candidemia, biopelículas, mortalidad, factores de riesgo.

## ABSTRACT

**Introduction.** Candidemia, the most common invasive mycosis worldwide, has doubled its incidence in recent decades and has a high mortality rate, especially in cancer patients who frequently present states of immunosuppression. In addition, the intrinsic characteristics of each infecting *Candida* yeast may influence the development and clinical course of the disease. Some strains of *Candida* have the ability to produce biofilms, which is a mechanism that limits the action of antifungal agents and the host's immune response. There are known risk factors associated with mortality from these invasive mycoses; however, there is limited and contradictory evidence on the role of biofilm formation and the risk of death.

**Research question.** Do patients with candidemia caused by biofilm-forming strains have higher mortality than patients with candidemia caused by non-biofilm-forming strains? **Materials and methods.** A retrospective cohort study was performed. 140 cases of candidemia diagnosed at the Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) between June 2015 and October 2017 were studied. Data were collected from medical records and records of the INEN Microbiology Laboratory. In addition, the biofilm production test was carried out on the strains collected during the study period. The cases were followed up from the diagnosis of candidemia for 30 days until death or medical discharge. The Hazard Ratio (HR) of death was estimated as a measure of association between biofilm formation and mortality using bivariate and multivariate Cox regression analysis. Potential confounding variables were considered in the analysis and the level of significance was  $p < 0.05$ . **Results.** On the first day of post-diagnosis follow-up, a very high mortality was observed (17/21=81.0%) among the patients

who were not treated with either antifungal or antibacterial. The high level of biofilm formation was associated with a higher instantaneous risk of death (HR 3.92;  $p=0.022$ ) and did not change when adjusting for other covariates (HR 6.59;  $p=0.003$ ). In addition, the instantaneous risk of death was found to be associated with greater age (16-59 years with HR 4.27;  $p=0.003$  and 60+ years with HR 5.88;  $p=0.001$  compared to 0-15 years), presence of some comorbidity (HR 2.72;  $p=0.001$ ) and origin of the hospital emergency (HR 7.58;  $p<0.001$ ). **Conclusions.** The consistency of the observed association between candidemia with in vitro biofilm formation and increased risk of death is one more level of evidence for a possible causal association. The survival analysis made it possible to ensure an adequate evaluation of the real risk of death that the patients had since their entry into the cohort. Adulthood, being over 15 years old, the presence of comorbidities and the origin of the hospital emergency represented the fragile clinical condition of the patients, associated with a higher risk of death.

**Keywords:** Candidemia, biofilms, mortality, risk factors.

# I. INTRODUCCIÓN

La candidemia es una micosis invasiva causada por hongos levaduriformes oportunistas del género *Candida*, las cuales alcanzan torrente sanguíneo a través de la mucosa gastrointestinal y la piel, cuando ocurren cambios que afectan la inmunidad del huésped (1-3). Por ello, una población seriamente afectada por candidemia son los pacientes oncológicos, principalmente aquellos con leucemias y receptores de trasplante de medula ósea (4-8). Estos pacientes presentan factores condicionantes como terapia inmunosupresora, neutropenia, trasplante de órganos, uso de múltiples dispositivos invasivos y exposición a agentes antibacterianos de amplio espectro (9-11). Además de los factores predisponentes relacionados al huésped, las características intrínsecas de cada levadura de *Candida* spp puede influir en el desarrollo y curso clínico de la enfermedad (12-14).

La mayoría de las infecciones causadas por *Candida* spp implican la proliferación de biopelículas en superficies artificiales o bióticas, como las mucosas (15-16). Estas comunidades microbianas contenidas en una matriz extracelular que le permiten a las levaduras de *Candida* tolerar altas concentraciones de antimicóticos y evadir la respuesta inmune del huésped (15-20). Asimismo, las células contenidas en las biopelículas y las que son liberadas durante su ciclo biológico, no solo son menos sensibles a los antifúngicos, sino también juegan un rol importante en la virulencia y persistencia de la enfermedad (15, 21, 22).

Tomando en cuenta el impacto de la candidemia en el paciente inmunocomprometido y las propiedades virulentas de las cepas de *Candida*

productoras de biopelículas, es que se necesita conocer el rol que cumplen las biopelículas en el desenlace de la candidemia en pacientes oncológicos. La realización de estudios que evalúen la posible asociación entre la formación de biopelículas, junto a otros potenciales factores asociados, y la muerte en la candidemia de pacientes oncológicos, proveerán de un mejor entendimiento de la epidemiología y posibles acciones para el mejor manejo clínico y terapéutico de estas micosis invasivas.

## **II. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN**

### ***II.1 Planteamiento del problema***

La candidemia es una infección fúngica intrahospitalarias muy frecuentes a nivel mundial (23-27) cuyas tasas de incidencia se han duplicado en las últimas décadas debido al incremento de pacientes inmunocomprometidos y de enfermedades crónicas (28-32). Además, la candidemia poseen tasas de mortalidad entre 30 y 50% por lo que son una seria amenaza para la vida, más aún para pacientes con cáncer (33-38) y representan altos costos en salud (39-42).

Diversos estudios han encontrado que la mortalidad en la candidemia está asociada a la edad avanzada, un alto puntaje APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation), la especie de *Candida* implicada, la permanencia de catéter venoso central (CVC), y la falta o inadecuado tratamiento antifúngico (43-52). Por otro lado, existe evidencia que contribuyen a pensar que la candidemia causada por cepas productoras de biopelículas conllevarían a un mayor riesgo de muerte. Se ha encontrado que la remoción de CVC, principal fuente de formación de biopelículas en ambientes clínicos (53,54), así como el tratamiento con equinocandinas, antifúngico efectivo contra biopelículas de *Candida* (55,56), son medidas terapéuticas asociadas a menor mortalidad en pacientes con candidemia (57-60). Sin embargo, estos estudios no evaluaron directamente el rol de la formación de biopelículas de los aislamientos de *Candida* spp.

Estudios donde sí se evaluó el posible rol de las biopelículas en la mortalidad de la candidemia tuvieron hallazgos heterogéneos. Algunos estudios encontraron

asociación entre la formación de biopelículas y la mortalidad en pacientes con candidemia. Uno de ellos evaluando múltiples aislamientos de un mismo paciente y sin analizar la mortalidad para todos los casos, además encontró asociación únicamente en una especie de *Candida* (61). En otros dos estudios, uno solamente estudió a población adulta (62), y en ambos no se evaluó la ocurrencia de la muerte en función del tiempo (62,63). Dos recientes estudios también encontraron asociación, en uno se evaluó únicamente a población adulta (64) mientras que en el otro los resultados de los métodos empleados de lectura de formación de biopelículas fueron contradictorios (65) y en ambos no se evaluó la ocurrencia de la muerte en función del tiempo.

Por el contrario, otros dos estudios han encontrado que la producción de biopelículas no está asociado a mortalidad; aunque con tamaño de muestra limitada (66) y ambos sin considerar el ajuste por variables confusoras ni el análisis estadístico recomendado para estudios de sobrevivencia (66, 67). Recientemente, otro estudio no encontró asociación, pero solo evaluó población adulta (68) y tampoco se realizó el análisis estadístico recomendado para estudios de sobrevivencia.

Por lo tanto, se tiene evidencia contradictoria y limitada que no permite conocer claramente el papel que puede cumplir la formación de biopelículas en la mortalidad de los casos de candidemia.

**Hipótesis:** Los pacientes con candidemia causadas por cepas formadoras de biopelículas presentan mayor mortalidad que los pacientes con candidemia causada por cepas no formadoras de biopelículas.

## ***II.2 Justificación***

La candidemia constituye un serio riesgo para la vida en pacientes susceptibles, como claramente son los pacientes con cáncer, a contraer estas infecciones oportunistas por lo que la identificación de factores de riesgo asociados a su desenlace es una necesidad para un mejor manejo de los pacientes.

Aunque la formación de biopelículas es un factor de virulencia poco estudiado en el ámbito clínico, su posible asociación a la mortalidad en la candidemia tiene relevancia epidemiológica, clínica y terapéutica para estas infecciones intrahospitalarias. Saber si la producción de biopelículas incrementa el riesgo de muerte en la candidemia nos permitirá:

- Hacer seguimiento y control de la terapia antifúngica con efecto sobre biopelículas.
- Evaluar la implementación de ensayos de formación de biopelículas en los asilamientos clínicos de candidemia.
- Hacer vigilancia epidemiológica de cepas productoras de biopelículas estudiando las características genotípicas y sus implicancias clínicas.
- Estudiar posibles factores asociados al desarrollo de candidemia por cepas formadoras de biopelículas.



### III. MARCO TEÓRICO

#### *III.1 Biopelículas en Candida: Definición, formación, estructura y propiedades*

**Definición.** Las biopelículas son comunidades sésiles que se derivan de microorganismos precursores caracterizados por contener células adheridas a una matriz de sustancias poliméricas extracelulares (SPE) que ellas mismas producen, presentando una tasa de crecimiento y genética propia (69).

**Formación.** La formación de biopelículas es un proceso con múltiples fases y que ha sido bien descrito para *C. albicans*. La *fase temprana* inicia con la adhesión de células de levadura a una superficie, seguida de la formación de una colonia discreta. En la *fase intermedia*, las células se organizan para producir y secretar SPE que conllevan a la formación de una bicapa compuesta por levadura, tubos germinativos y/o hifas jóvenes. En la *fase de maduración*, se forma una estructura tridimensional con el desarrollo de una gruesa capa de SPE conteniendo levaduras e hifas en una densa red. Finalmente, en la *fase de dispersión* se lleva a cabo la diseminación de células que se desprenden migrando a otros nichos para formar más biopelícula y propagar la colonización/infección. (70, 71)

**Estructura y propiedades.** La matriz de las biopelículas contiene una variedad de macromoléculas como proteínas (55%), carbohidratos (25%), lípidos (15%) y ADN (5%) (72). La forma de las biopelículas protege a las células contra los antibióticos, reduce la efectividad de los mecanismos de defensa del huésped, facilita la adquisición de nutrientes, y hace posible la transferencia horizontal de genes. Por otro lado, la naturaleza hidrogel de la matriz evita la desecación de las células y las protege contra la radiación UV, los cambios de temperatura, las fluctuaciones de

pH o las sustancias tóxicas. Además, la matriz sirve como un sistema de comunicación entre las células, las señales químicas y físicas (*quórum sensing*), el oxígeno, los nutrientes y los productos de desecho son transportados a través de un sistema de canal abierto ramificado (73). Durante las etapas de formación de biopelículas, se tiene una variedad de posibles estructuras, propiedades de adhesión, morfologías celulares y composición de SPE según la especie de *Candida* spp (Figura 1) (74).

**Figura 1. Esquema comparativo de tres etapas de formación de biopelículas de *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*.**

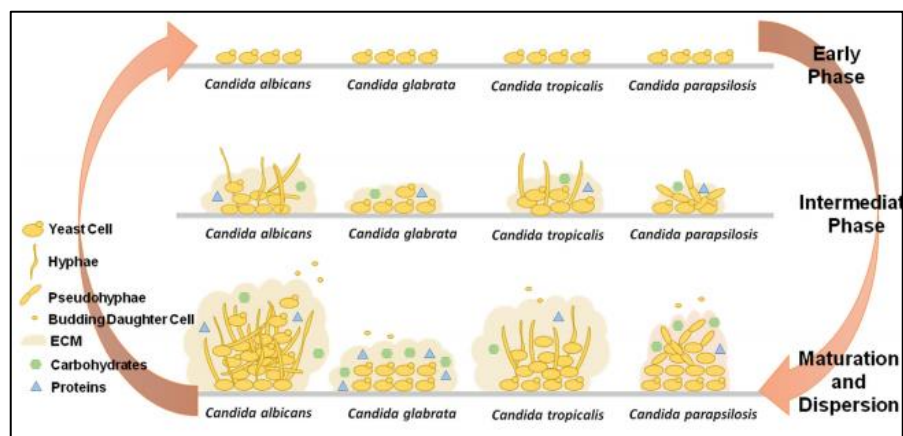


Imagen tomada de Cavalheiro, M., & Teixeira, M. C. (2018). *Candida* biofilms: threats, challenges, and promising strategies. *Frontiers in medicine*, 5, 28.

### ***III.2 Biopelículas en Candida e implicancias clínicas: Rol en las candidemia, resistencia antifúngica y ensayos para su detección in vitro***

**Rol en las candidemia.** La capacidad de *Candida* para adherirse a diferentes tipos de superficies le permite formar biopelículas en dispositivos médicos, como

catéteres intravasculares o urinarios, válvulas cardíacas protésicas y prótesis de articulaciones, o en diferentes tejidos del huésped (74).

El dispositivo implantado quirúrgicamente que se infecta con mayor frecuencia, utilizado para administrar líquidos, nutrientes y fármacos, es el catéter venoso central. El conector del catéter puede ser la fuente de la contaminación, pero sobre todo los microorganismos se introducen desde la piel del paciente o desde las manos del personal de salud. Además, si *Candida* spp. coloniza el tracto gastrointestinal como comensal puede penetrar la mucosa intestinal e invadir el torrente sanguíneo, las levaduras circulantes pueden "sembrar" la punta del catéter de forma endógena. Este podría ser un mecanismo de entrada común para los pacientes con cáncer que reciben regímenes quimioterapéuticos que causan daños a la mucosa intestinal (15)

**Resistencia antifúngica.** La mayoría de los mecanismos de resistencia a los antimicóticos resultan de mutaciones genéticas, por lo general, se trata de mutaciones de genes que codifican moléculas de unión a fármacos, enzimas de vías metabólicas o factores de transcripción. Las biopelículas de *Candida* spp. se caracterizan por tener una alta resistencia a todos los agentes antifúngicos utilizados actualmente: azoles (fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol), equinocandinas (caspofungina, micafungina, anidulafungina), anfotericina B, y flucitosina. Los estudios han demostrado que las biopelículas de *Candida* sp. resisten al fluconazol en una concentración 2000 veces mayor que para la forma planctónica. Por otro lado, las equinocandinas y la forma liposomal de anfotericina B exhiben actividad anti-biopelícula en concentraciones de 2 a 25 veces más altas que contra formas planctónicas. La inefectividad de los antifúngicos se explicaría

por dos adversidades; la penetración del fármaco en la estructura de la biopelícula y la resistencia de las levaduras producida por las células organizadas en las biopelículas (73).

*La penetración del fármaco en la estructura de las biopelículas.* Algunos estudios describen cómo la abundancia relativa de la matriz extracelular se correlaciona con la resistencia a los fármacos antifúngicos para las biopelículas de *Candida*. Los estudios han demostrado que la tolerancia antifúngica de las biopelículas de *Candida* se correlaciona más estrechamente con los polisacáridos de la matriz extracelular al formar un complejo que secuestra, probablemente a través de interacciones no covalentes, antifúngicos de uso común, como azoles, anfotericina B, anidulafungina y flucitosina (72).

*La resistencia a las levaduras producida por las células organizadas en las biopelículas.* La adquisición de resistencia durante la formación de la biopelícula se observó en estudios en los que *Candida* spp mostró una mayor resistencia a varios antifúngicos en comparación con las células planctónicas. Este aumento de la resistencia cuando las especies de *Candida* crecen como biopelículas podría explicarse por:

1. El **aumento de la actividad metabólica** que se produce en el desarrollo temprano de la biopelícula.
2. Las **alteraciones en la expresión génica** durante la formación de biopelículas de *C. albicans* incluyen la regulación positiva de genes CDR y MDR que codifican transportadores de resistencia a azoles, principalmente en la fase temprana de la

formación de la biopelícula, mientras que, en el proceso de maduración, los cambios en la composición de los esteroides parecen ser más relevantes. Además, algunos estudios muestran evidencia de que la resistencia a los antifúngicos en las biopelículas no depende de un solo mecanismo.

**3. Las células persisten**, son células inactivas que no se dividen y que tienen una alta tolerancia a los fármacos antimicrobianos. Se cree que esta tolerancia es posible gracias a la latencia de la célula, que permite la unión de los fármacos antimicrobianos a su objetivo específico, mientras que hace imposible que el fármaco inhiba la función de la molécula objetivo (74)

### **Ensayos para su detección in vitro**

En los últimos años se han desarrollado varios modelos *in vitro* de formación de biopelículas de *Candida* spp. La mayoría de estos modelos implican la adhesión de células de *Candida* spp a una superficie inanimada (por ejemplo, acrílico para dentaduras postizas, elastómero de silicona, cloruro de polivinilo, etc.) seguido de incubación en medio de crecimiento. La formación de biopelículas puede ir seguida de: (a) reducción de la sal de tetrazolio (XTT) a productos de formazán que se miden espectrofotométricamente, (b) tinción con violeta cristal, (c) determinación del peso de células secas, medición del porcentaje de transmisión (%T), Cuantificación de ADN / proteínas y recuento de colonias viables. Entre estos, se ha encontrado que el ensayo de actividad metabólica basado en XTT es el método más reproducible, preciso y eficiente para cuantificar la formación de biopelículas de *Candida* spp (75,76).

## **IV. OBJETIVOS**

### ***IV.1 Objetivo general***

- Establecer si la formación de biopelículas está asociada a mortalidad en pacientes oncológicos con candidemia

### ***IV.2 Objetivo secundario***

- Identificar los factores de riesgo asociados a mortalidad
- Estimar la proporción de especies de *Candida* aisladas de candidemia
- Determinar los niveles de producción de biopelículas según especies de *Candida*.

## **V. METODOLOGÍA**

### ***V.1 Diseño del estudio***

Este es un estudio de cohorte retrospectiva en la que se compara la mortalidad de los pacientes con candidemia causada por cepas formadoras de biopelículas y los pacientes con candidemia causada por cepas no formadoras de biopelículas. Se realizó el análisis de datos y muestras ya recogidas provenientes de pacientes atendidos en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) a partir del diagnóstico de candidemia durante el periodo junio 2015 – octubre 2017 durante 30 días hasta la muerte o el alta médica. Los datos son recolectados rutinariamente tanto en las historias clínicas por el médico tratante, así como en los registros del Laboratorio de Microbiología del INEN. Además, se realizó el estudio de producción de biopelículas de las cepas recolectadas durante el periodo de estudio, ensayo que no forma parte de la rutina laboratorial.

### ***V.2 Diseño muestral***

#### **V.2.1 Población**

La población de estudio está conformada por los pacientes hospitalizados a las que se les diagnostica candidemia y cuyas cepas son aisladas en el Laboratorio de Microbiología del INEN. El INEN es un instituto de referencia a nivel nacional y es considerado, por su complejidad, un centro de atención de nivel 3 según el Ministerio de Salud. Este instituto especializado en el estudio del cáncer está abocado a la prevención, diagnóstico, tratamiento y seguimiento de pacientes oncológicos y se

encuentra en la ciudad de Lima y asiste a pacientes provenientes de todas partes del Perú. Los pacientes hospitalizados del INEN padecen de diversas neoplasias y en diversos estadios, pudiendo llegar a tal condición debido a alguna enfermedad concomitante, por sus condiciones oncológicas o ambas. Estos pacientes cursan con estados de inmunosupresión por ser objeto de diversos procedimientos como quimioterapias antineoplásicas, radioterapias y antibioticoterapia de amplio espectro. Adicionalmente, están expuestos al uso de dispositivos invasivos y cirugías, como parte del tratamiento de sus neoplasias. Las condiciones antes mencionadas predisponen a estos pacientes a contraer infecciones invasivas por patógenos oportunistas como son los hongos levaduriformes del género *Candida*.

### **V.2.2 Criterios de inclusión**

- Paciente hospitalizado en el INEN durante el periodo junio 2015 – octubre 2017 con fiebre y/o escalofríos, leucopenia o leucocitosis por lo que se le practica el hemocultivo, usualmente por sospecha de infección nosocomial.
- Paciente con hemocultivo positivo a *Candida* spp y cuya cepa se recuperó en el Laboratorio de Microbiología del INEN.

### **V.2.3 Criterios de exclusión**

- Paciente con candidemia repetida dentro de un periodo menor de un mes de un episodio previo



### ***V.3 Muestreo***

#### **V.3.1 Tipo de muestreo**

Se realizó muestreo aleatorio sistemático consecutivo de los casos de candidemia diagnosticados y registrados en el Laboratorio de Microbiología – INEN entre junio del 2015 y octubre del 2017. Todo hemocultivo que se procesó en el laboratorio en el plazo del estudio, fue evaluado para candidemia sin excepción. A diferencia de otros muestreos sistemáticos que captan uno de cada grupo de tamaño X de personas elegibles (1 de cada 3, o 1 de cada 10, por ejemplo), en este estudio se incluyeron todos los elegibles, es decir se capturaron 1 de cada 1 paciente. De esta forma, el muestreo fue sistemático y aleatorio al incluir todos los casos diagnosticados que aparecieron en el hospital.

### ***V.4 Procedimientos y técnicas***

#### **V.4.1 Tamizaje y enrolamiento**

Comprende la revisión del registro de procesamiento de hemocultivos del Laboratorio de Microbiología del INEN durante el periodo de estudio. Todos los casos de hemocultivos positivos a *Candida* spp fueron identificados e incluidos al estudio, siempre que cumplan los criterios de inclusión y exclusión establecidos.

#### **V.4.2 Recolección de datos**

La información microbiológica y datos laboratoriales se transcribieron del cuaderno de registro de procesados en el Laboratorio de Microbiología y del Sistema Informático del Laboratorio del INEN, respectivamente. Los datos clínicos y de factores de riesgo como edad, sexo, comorbilidad, procedencia

hospitalaria, tipo de neoplasia, entre otros, así como el desenlace, la mortalidad hospitalaria mediante seguimiento de 30 días, se recolectaron de las historias clínicas en fichas de recolección de datos. Por otro lado, la determinación de la capacidad y el nivel de producción de biopelículas en las cepas aisladas de hemocultivos se realizó en el Laboratorio de Micología del Instituto de Medicina Tropical “Daniel Alcides Carrión” – Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Los datos fueron analizados con el programa Stata versión 14.0.

#### **V.4.3 Procesamiento de muestras biológicas**

Se obtuvieron muestras de sangre periférica de pacientes con sospecha de infección nosocomial por punción venosa o por punción venosa y catéter venoso central. Las muestras fueron tomadas directamente en por lo menos un frasco de medio de cultivo líquido del sistema automatizado BD BACTEC™ FX (BD Diagnostics, Sparks, MD). Una vez tomadas las muestras en los frascos conteniendo el medio de cultivo líquido, estos frascos son llevados al Laboratorio de Microbiología e introducidos al sistema automatizado BD BACTEC™ FX para su procesamiento. Este sistema detecta el crecimiento de microorganismos, que incluye hongos del género *Candida*, y permite recuperarlos hasta en 5 días a partir de su incubación. El sistema BD BACTEC™ FX ha demostrado ser el mejor sistema para la recuperación de hongos del género *Candida* en muestras de sangre (77-79). Luego de la detección de un hemocultivo positivo por el sistema, se realiza la identificación presuntiva del hongo mediante la coloración Gram, y se procede a su aislamiento en medio de cultivo Agar Sabouraud Glucosado. La

identificación definitiva de las cepas aisladas, género y especie de *Candida*, se realiza mediante pruebas morfológicas según Técnica de Dalmaut (80) en Agar Almidón Arroz y pruebas bioquímicas mediante CHROMagar *Candida* (CHROMagar Microbiology, France) (81). La confirmación de la identificación se realiza mediante la asimilación de carbohidratos con el método comercial de identificación de levaduras API 20 (bioMérieux), el cual tiene una correlación mayor al 95% con la metodología convencional (82,83). Además, como parte de la rutina del estudio microbiológico se evalúa la sensibilidad al antifúngico fluconazol mediante métodos basados en agar; disco difusión y E-test (AB Biodisk, Solna, Sweden), obteniendo las categorías de sensible (S), sensible dosis dependiente (SDD) y resistente (R). Estos métodos han mostrado correlación mayor al 96% respecto al método estándar de dilución en caldo (84,85).

Por otro lado, el ensayo de formación de biopelículas en las cepas de *Candida* spp se realizó mediante el método estandarizado de microplaca y su cuantificación mediante la reducción del XTT (2,3-bis-(2-methoxy-4-nitro-5-sulfophenyl)-2H-tetrazolium-5-carboxanilide) (Figura 2).

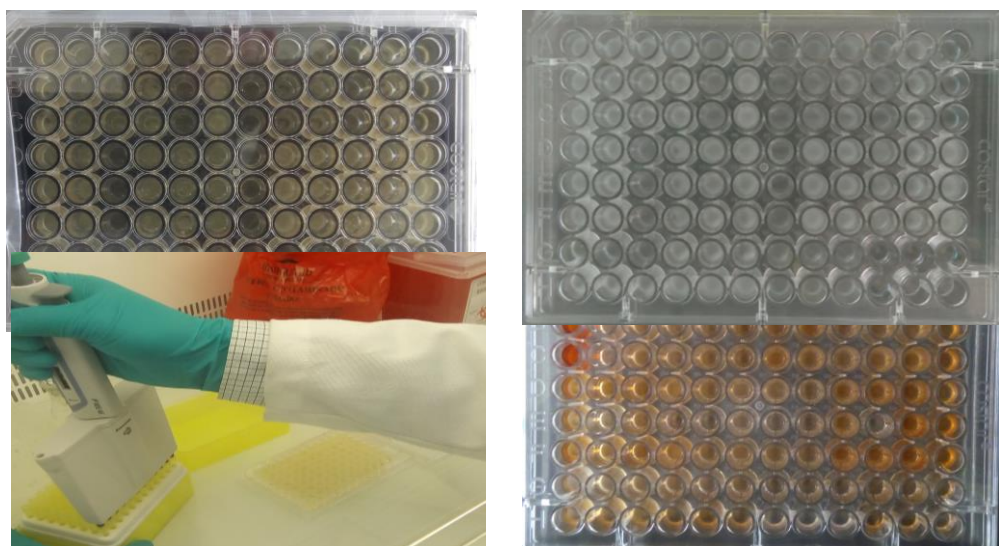


Figura 2. A (Superior izquierdo): siembra del inóculo de *Candida* spp en la microplaca, B (superior derecho): formación de biopelículas posterior a la incubación, C (inferior izquierdo): lavado de los pocillos para discriminar la formación de biopelículas, D (inferior derecho): cuantificación de biopelículas mediante la reacción colorimétrica por reducción de XTT. Figura propia

Las cepas con densidades ópticas (DO)  $< 0.1$  fueron categorizadas como no formadoras de biopelículas y las cepas con DO  $\geq 0.1$  como formadoras de biopelículas (86). Además, el método de cuantificación permitió categorizar niveles de formación de biopelículas según D.O; No biopelículas ( $<0.1$ ), nivel bajo (0.1 a 0.25), nivel medio (0.26 a 0.5) y nivel alto ( $> 0.5$ ). Post-hoc se integraron las categorías nivel bajo y nivel medio debido a que las D.O del nivel alto fueron considerablemente mayores a las de niveles bajo y medio. Por lo tanto, se analizó los niveles de formación de biopelículas en niveles bajo-medio y nivel alto.

#### **V.4.4 Supervisión y monitorización de actividades**

El control de calidad de los procesos en el diagnóstico de la candidemia es propio de la rutina del laboratorio de microbiología del INEN. El monitoreo de la presentación de casos de candidemia y el control del llenado de fichas de recolección de datos se realizó mediante el cruce de información de las diversas fuentes de obtención de datos (registros de laboratorio, sistema informático e historias clínicas). Además, el ensayo de formación de biopelículas, la cual no forma parte de la rutina del laboratorio, incluyó el uso de controles y el cumplimiento del protocolo validado en estudios previos.

## V.5 Operacionalización de variables

### V.5.1 Variable desenlace y co-variable principal

**Variable dependiente:** *Mortalidad hospitalaria*

Resultado clínico observado en el seguimiento de los pacientes con candidemia, infección de la sangre por un hongo del género *Candida*, desde el diagnóstico. Las muertes después de los 30 días y el alta médica, para fines del estudio serán considerados sobrevida. (Tabla 1).

Tabla 1. Características de la variable dependiente, *Mortalidad hospitalaria*

Variable	Definición		Valores posibles	Criterios de medición	Tipo de variable	Fuente
	Conceptual	Operacional				
Mortalidad hospitalaria	Mortalidad hospitalaria ocurrida entre los pacientes con candidemia, luego de los 30 días a partir del día diagnóstico.	Desenlace observado en el seguimiento de los pacientes con candidemia, durante 30 días a partir del día diagnóstico.	Muerte y sobrevida	Nominal dicotómica	Dependiente	Historias clínicas del INEN

**Variable independiente:** *Formación de biopelículas*

Resultado de la evaluación de formación de biopelículas *in vitro*. (Tabla 2).

Tabla 2. Características de la variable independiente, *Formación de biopelículas*

Variable	Definición		Valores posibles	Criterios de medición	Tipo de variable	Fuente
	Conceptual	Operacional				
Formación de biopelículas	Capacidad de formación de biopelículas <i>in vitro</i> de las cepas aisladas de candidemia	Ensayo de formación de biopelículas <i>in vitro</i> mediante la reducción de XTT	Formación y no formación	Nominal dicotómica	Independiente	Laboratorio de Micología del Instituto de Medicina Tropical - UNMSM

## V.5.2 Otras co-variables relevantes

Tabla 3. Características de las co-variables del estudio

Variable	Definición		Valores posibles	Criterios de medición	Tipo de variable	Fuente
	Conceptual	Operacional				
Edad	Tiempo de vida	Tiempo de vida en años	0 -15, 16 – 59 60 a mas	Nominal, politómica	Confusora	Sistema informático
Sexo	Condición biológica de genero	Condición orgánica	Masculino y femenino	Nominal, dicotómica	Confusora	Sistema informático
Procedencia	Condición de la atención hospitalaria	Localización hospitalaria	Hospitalización y emergencia	Nominal, dicotómica	Confusora	Sistema informático
Comorbilidad	Enfermedad acompañante	Enfermedad acompañante diagnosticada	Si y no	Nominal, dicotómica	Confusora	Historia clínica del INEN
Tratamiento antifúngico	Terapia antifúngica instaurada	Administración del antifúngico	Si y no	Nominal, dicotómica	Confusora	Historia clínica del INEN
Tratamiento antibacteriano	Terapia antibacteriana instaurada	Administración del antibacteriano	Si y no	Nominal, dicotómica	Confusora	Historia clínica del INEN
Tipo de neoplasia	Tipo de cáncer	Diagnostico oncológico	Tumor sólido y hematológica	Nominal, dicotómica	Confusora	Historia clínica del INEN
Estancia en UCI	Necesidad de atención en UCI	Presencia en UCI	Si y no	Nominal, dicotómica	Confusora	Historia clínica del INEN
Terapia antifúngica adecuada	Terapia dentro de 48 horas post diagnóstico y al menos por 5 días seguidos		Si y no	Nominal, dicotómica	Confusora	Historia clínica del INEN

Las neoplasias fueron agrupadas como hematológicas y tumores sólidos siguiendo la clasificación de la Organización Mundial de la Salud (87). Tanto las neoplasias hematológicas como los tumores sólidos incluyen diversos diagnósticos oncológicos particulares los cuales difieren marcadamente respecto al manejo terapéutico y las tasas de sobrevivida. Así mismo, La terapia antifúngica adecuada se definió como la terapia recibida dentro de las 48 horas posteriores al diagnóstico y al menos por 5 días consecutivos. (88,89) Tabla 3

## ***V.6 Consideraciones éticas***

El presente es un análisis primario de muestras y datos clínicos disponibles en el sistema informático hospitalario, por lo que no se tuvo contacto alguno con sujetos humanos. En todo momento, los datos fueron manejados con códigos únicos de estudio y el investigador no tuvo acceso a información personal o que podría identificar a los pacientes de donde proviene la información.

Este protocolo se registró en el Sistema Descentralizado de Información y Seguimiento a la Investigación (SIDISI) - Dirección Universitaria de Investigación, Ciencia y Tecnología (DUICT), y fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética de la UPCH (CIE-UPCH) previo a su ejecución. Además, el proyecto ha sido revisado y aprobado por el Comité Revisor de Protocolos del Departamento de Investigación del INEN. Durante la implementación del estudio se respetó los principios éticos delineados en la Declaración de Helsinki, y se siguieron estrictamente las recomendaciones realizadas por el CIE-UPCH.

## ***V.7 Plan de análisis***

### **V.7.1 Tamaño de muestra y Potencia estadística**

#### **V.7.1.1. Cálculo de la potencia estadística**

En las dos últimas décadas se ha encontrado que la tasa de mortalidad en pacientes con cáncer es de 40% (33-38) y al menos alrededor de 25% de diferencia entre las tasas de mortalidad de candidemia con producción y no producción de biopelículas (63,66). Asimismo, la formación de biopelículas en cepas de candidemia es variable, pero en promedio representa cerca al 50% de los casos (63, 66, 67,77).

Por ello, en este estudio se esperó un 70% y 40% de mortalidad en infecciones con candidemia formadora y no formadora de biopelículas, respectivamente.

Para un tamaño de muestra de 140 casos de candidemia ocurridas en el periodo de estudio, asumiendo que 50% de los casos de candidemia forman películas, un nivel de significancia estadística con un valor  $\alpha=0.05$ , se tiene una potencia con un valor  $1-\beta$  cercano a 80% (74%). Esta potencia, ligeramente debajo de lo recomendado, no impidió encontrar asociaciones significativas en el análisis.

```
. power cox, n(140) failprob(0.40) effect(hratio)
```

Estimated power for Cox PH regression

Wald test

Ho:  $\beta_1 = 0$  versus Ha:  $\beta_1 \neq 0$

Study parameters:

alpha = 0.0500

N = 140

delta = 0.5000 (hazard ratio)

hratio = 0.5000

sd = 0.5000

Number of events and censoring:

E = 56

Pr\_E = 0.4000

Estimated power:

power = 0.7368



### ***V.7.1 Procesamiento y análisis estadístico***

El tiempo de fallecimiento y por ende la mortalidad se midió desde el momento del diagnóstico de la candidemia hasta la fecha de la muerte (por cualquier causa). Los casos de pacientes que sobrevivieron luego de los 30 días de seguimiento o tuvieron alta médica fueron censurados.

Se evaluó en forma bivariada la relación entre la variable desenlace, mortalidad hospitalaria, y las covariables propuestas mediante las pruebas Chi<sup>2</sup> y T de Student para variables categóricas y numéricas, respectivamente. Se realizó un análisis de supervivencia de tiempo continuo para las poblaciones según la producción de biopelículas. Las curvas de supervivencia se construyeron con el método de Kaplan-Meier y se compararon entre niveles de las covariables por medio de la prueba Log Rank, asumiendo que la censura de casos no está relacionada con el pronóstico y la probabilidad de sobrevivida de los pacientes incorporados en cualquier tiempo del estudio. Debido a que el riesgo de muerte de los pacientes no es uniforme durante el tiempo de seguimiento se consideró realizar el análisis de regresión bivariado de Cox estimando el “hazard ratio” (HR) de la mortalidad cruda, como medida de asociación entre la variable mortalidad hospitalaria, y la formación de biopelículas; así como los HR para cada una de las covariables consideradas en el análisis.

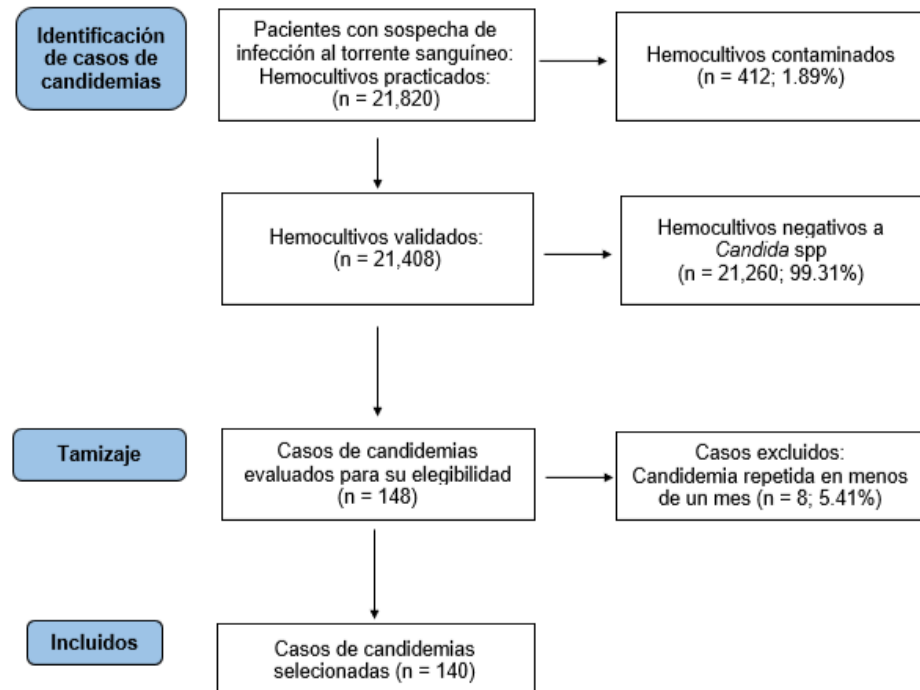
El modelo final de regresión múltiple de Cox evaluó la posible asociación entre el tiempo al evento de muerte hospitalaria como variable dependiente y la formación de biopelículas como variable de exposición, ajustada por las demás variables independientes de interés. La selección de las variables para la construcción de modelos anidados se realizó mediante la prueba de la razón de verosimilitud

( $p < 0.05$ ). La bondad de ajuste del modelo se determinó mediante el análisis con residuales de Schoenfeld y Cox-Nell y el manejo de empates mediante el método de verosimilitud parcial propuesto por Efron. Se evaluó el supuesto de proporcionalidad de los hazards en el modelo global (total) y por cada covariable en los análisis bivariados, a través de métodos gráficos (Residuales de Schoenfeld y supervivencia observada versus esperada) y analíticos (Prueba de proporcionalidad). Para verificar la consistencia de los resultados del modelo final se realizó un análisis de regresión de Poisson únicamente con las covariables del modelo ajustado y se compararon la significancia estadística y la dirección de las asociaciones para cada una de ellas. El análisis de datos se realizó con el software estadístico Stata versión v.14.0 (StataCorp, College Station, Texas 77845 USA).

## VI. RESULTADOS

De junio 2015 a octubre 2017 se realizaron 21,820 hemocultivos en el laboratorio de microbiología del INEN, resultando 412 (1.89%) hemocultivos contaminados. Entre los cultivos válidos, 148 fueron positivos a *Candida* spp (0.69%), los cuales fueron obtenidas de 137 pacientes. Ocho hemocultivos positivos no cumplieron el criterio de exclusión de candidemia repetida dentro de un periodo menor de un mes de un episodio previo. Tres pacientes tuvieron más de un episodio de candidemia separados entre sí por menos de un mes, por lo que se analizaron solo los resultados del primer aislamiento de estos pacientes en cumplimiento de los criterios de inclusión. Por ello, el tamaño de muestra disponible final fue de 140 pacientes con hemocultivos positivos a *Candida* spp (Figura 3).

Figura 3. Selección de la muestra de estudio. Figura propia



### **Características generales de la muestra**

La mayoría de los participantes fueron adultos entre 16 y 59 años (58.6% del total de casos) y poco más de la mitad fueron mujeres (54.3%). Los pacientes presentaron frecuentemente comorbilidades (32.1%) y neutropenia (40.7%). El tipo de neoplasia más común fue la hematológica (57.9%), y los diagnósticos oncológicos más frecuentes fueron las leucemias linfocíticas agudas (25.7%) y los tumores gastrointestinales (22.2%). Un alto porcentaje de los pacientes recibió terapia inmunosupresora (42.9%) y terapia antibacteriana (79.3%). Además, 64.3% de los pacientes requirieron catéter venoso central y 22.1% tuvieron estancia en UCI.

Los casos de candidemia fueron tratadas principalmente con antifúngicos (76.4%), empleándose más frecuentemente antimicóticos con actividad frente a biopelículas como equinocandinas y formulación lipídica de anfotericina B (47.1%), seguidos de antimicóticos sin actividad frente a biopelículas (29.3%). Un 62.1% de los pacientes recibió terapia antifúngica adecuada. La posterior tipificación de los aislamientos mostró que las especies predominantes fueron *C. tropicalis* (47.9%) y *C. albicans* (34.3%). Más de un cuarto de los aislamientos (27.2%) fueron resistentes a fluconazol y la mayoría (75.7%) formaron biopelículas *in vitro*. Casi la mitad de los pacientes (65, 46.4%) fallecieron durante los 30 días posteriores al diagnóstico de candidemia. La mayoría de las muertes ocurrieron tempranamente: casi una tercera parte en el primer día (32.3%) y 20% adicional entre el segundo y quinto día, alcanzando el 81.5% al día 15 del seguimiento (Tabla 1).

### **Factores asociados a mortalidad hospitalaria**

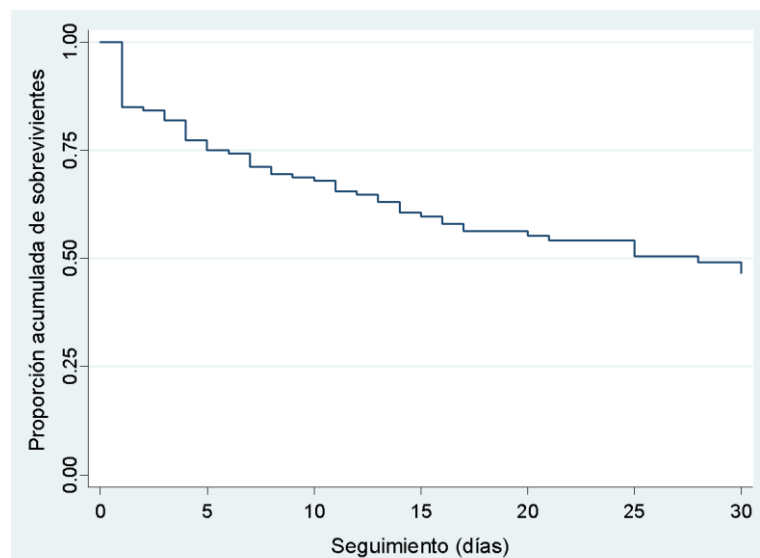
Según la información de las historias clínicas, la mortalidad subió al menos 28% por encima de los 15 años ( $p=0.034$ ). Se observó mayor mortalidad en pacientes con comorbilidades (64.4% vs 37.9%,  $p=0.003$ ), y en quienes ingresaron por emergencia (87.5% vs 43.9%,  $p=0.016$ ), así como en pacientes que no recibieron terapia y/o la recibieron inadecuadamente (60.4% vs 37.9%,  $p=0.010$ ). Además, los pacientes con candidemia que formaron biopelículas tuvieron una mortalidad marginalmente mayor (50.9% vs 32.3%,  $p=0.059$ ), con una tendencia significativa de mayor mortalidad a mayor formación de biopelículas ( $p=0.033$ ). Por otro lado, tuvieron menor mortalidad tanto los pacientes que recibieron terapia antifúngica (41.1% vs 63.6%,  $p=0.023$ ) como los pacientes que recibieron terapia antibacteriana (41.4% vs 65.5%,  $p=0.021$ ), interesantemente en tasas muy similares, en parte porque ambas terapias se aplicaron conjuntamente según las historias clínicas (95.3%,  $p<0.001$ ). También tuvieron menor mortalidad los pacientes con CVC (40.0% vs 58.0%,  $p=0.041$ ) y quienes recibieron terapia antifúngica adecuada (37% vs 55%,  $p=0.030$ ). Además, se encontró que no había proporcionalidad de Hazards en las variables asociadas al tratamiento antibacteriano ( $p=0.001$ ) ni antifúngico ( $p=0.033$ ), mientras que si hubo proporcionalidad de Hazards para el resto de variables. (Tabla 2).

### **Análisis de sobrevida**

Los pacientes con candidemia mostraron alto riesgo de morir en el primer día de seguimiento y un consecuente fuerte descenso de la sobrevida en esas primeras 24 horas. A partir del segundo día, los decesos fueron más espaciados y la sobrevida cayó mucho más lenta y progresivamente (Figura 4). Este patrón diferenciado de

mortalidad a través del tiempo sugirió una posible presencia de factores asociados a la mortalidad, pero tal vez sin proporcionalidad de los hazards a través del tiempo.

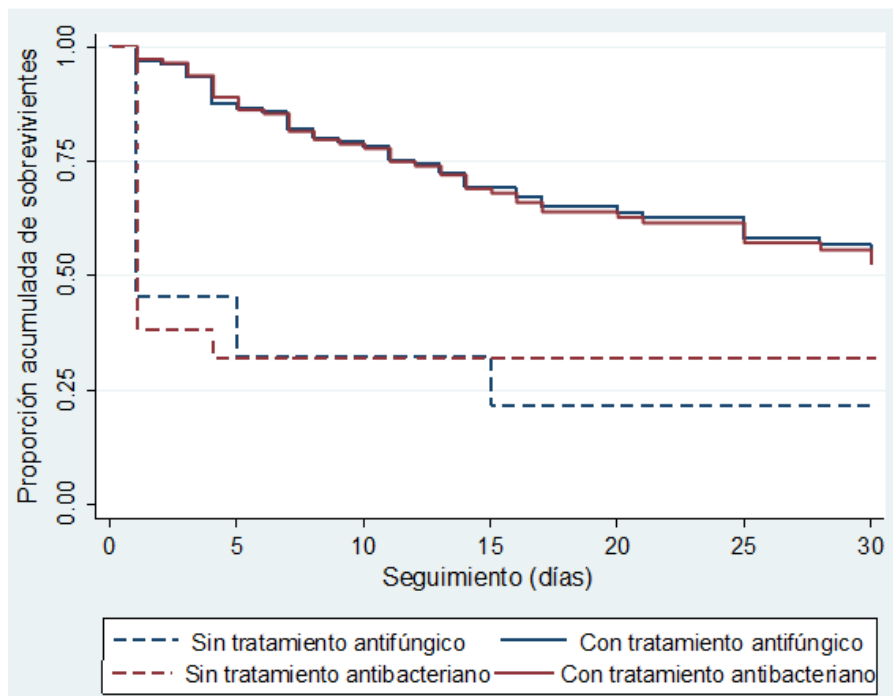
**Figura 4. Sobrevida global de los pacientes con candidemia estimada por método de Kaplan Meier. Figura propia**



La evaluación de la proporcionalidad de los hazards de las covariables del estudio, realizados antes de los análisis bivariados de tiempo para evento, mostró que la alta mortalidad en el primer día de seguimiento se concentraba en sub-grupos de pacientes puntuales definidos por los tratamientos que recibieron, generando falta de proporcionalidad en los hazards de estas covariables. Específicamente, las curvas de sobrevida de los pacientes según si recibieron tratamiento antifúngico o antibacteriano (Figura 5) muestran en ambos casos una alta mortalidad el primer día del seguimiento entre los pacientes no tratados, pero una tasa de mortalidad menor y aparentemente más homogénea en los pacientes tratados. Esto resulta en

hazards no proporcionales asociados al tratamiento con antifúngicos y antibacterianos.

**Figura 5. Sobrevida según tratamiento antifúngico y antibacteriano estimada por método de Kaplan Meier. Figura propia**



Al explorar en detalle las características de los fallecidos en el primer día, se encontró que la gran mayoría de los decesos ocurrieron en pacientes que no fueron tratados ni con antifúngicos ni con antibacterianos (17/21=81.0%, Tabla 3). Los fallecimientos a partir del segundo día, en contraste, ocurrieron casi exclusivamente en pacientes que recibieron ambas terapias, y fueron dándose más progresivamente.

Dada la gran diferencia en la mortalidad al primer día en los no tratados versus el resto, se postuló la posibilidad de que el tratamiento actúe como un modificador de efecto de la asociación entre biopelículas y supervivencia. Por ende, se siguieron

las recomendaciones de Kleinbaum (90) de estratificar por el tratamiento para analizar resultados de tiempo para evento con regresión de Cox en grupos sin hazards proporcionales. Por ello, *post-hoc* se analizó los resultados separadamente en dos grupos o estratos: 1) Quienes no recibieron ni tratamiento antifúngico ni tratamiento antibacteriano, y 2) Quienes recibieron tratamiento antifúngico y/o antibacteriano. La asociación con la mortalidad se analizó en el primer estrato dicotómicamente porque los fallecidos se concentraban mayoritariamente en el primer día, mientras que, en el segundo estrato al ser la mortalidad más progresiva, se analizó mediante regresión de Cox como un enfoque tiempo para evento.

### **Mortalidad en pacientes con candidemia post diagnóstico según estrato de tratamiento.**

#### **Estrato 1: Pacientes sin tratamiento antibacteriano ni antifúngico (n=24)**

Entre los 24 pacientes que no recibieron tratamiento antifúngico ni antibacteriano, 17 fallecieron (70.8%). Tuvieron mayor mortalidad los pacientes con neoplasias hematológicas (100.0% vs 46.1%,  $p=0.006$ ) y aquellos infectados con cepas de *Candida* spp formadoras de biopelículas de nivel bajo-medio y alto (82.3% vs 25.0% y 66.7% vs 25.0%,  $p=0.049$ ) comparado con los que no formaron biopelículas (Tabla 4). No se observaron otras diferencias estadísticamente significativas en mortalidad, tal vez por el pequeño tamaño de muestra, y la baja potencia también impidió explorar posibles asociaciones multivariadas.



**Estrato 2: Pacientes que recibieron tratamiento antibacteriano y/o antifúngico (n=116)**

Un total de 48 pacientes fallecieron dentro de este grupo (41.4%). El análisis bivariado muestra que hubo mayor riesgo instantáneo de muerte en pacientes de grupos etarios 16–59 y 60 a más años comparado a 0-15 años (HR 3.61 con  $p=0.008$  y HR 3.87 con  $p=0.012$ , respectivamente), con presencia de alguna comorbilidad (HR 1.82;  $p=0.038$ ), procedentes de la emergencia hospitalaria (HR 4.84;  $p=0.001$ ), recibiendo terapia antifúngica inadecuada (HR 2.18;  $p=0.013$ ), con ventilación mecánica (HR 1.83;  $p=0.037$ ) e infectados con cepas de *Candida* que forman biopelículas de nivel alto (HR 3.92;  $p=0.022$ ).

El análisis exploratorio de regresión múltiple en este segundo estrato indicó asociación a mayor riesgo instantáneo de muerte con una mayor edad (16–59 años con HR 4.27;  $p=0.003$  y 60+ años con HR 5.88;  $p=0.001$  comparados a 0-15 años), presencia de alguna comorbilidad (HR 2.72;  $p=0.001$ ), procedencia de la emergencia hospitalaria (HR 7.58;  $p<0.001$ ), y un alto nivel de formación de biopelículas (HR 6.59;  $p=0.003$ ). El supuesto de proporcionalidad de hazards se cumplió para cada covariable evaluada ( $p>0.2$ ) y también para todas las covariables en conjunto ( $p=0.848$ ). Finalmente, las razones de hazard estimadas con la regresión de Cox múltiple en las asociaciones observadas tuvieron gran similitud en dirección y magnitud al compararse a las razones de incidencia estimadas con una regresión múltiple ajustada de Poisson sin considerar el momento del fallecimiento (Tabla 5).

Además, evaluamos la consistencia de la asociación entre formación de biopelículas y la mortalidad en pacientes según su procedencia hospitalaria. La tesis encontró que hubo mayor mortalidad en pacientes que ingresaron por emergencia comparados a pacientes hospitalizados. En ese mismo análisis, al ajustar por emergencia/hospitalización, un mayor nivel de biopelículas estuvo asociado a mayor riesgo de muerte. Este resultado no depende del origen del paciente, pues al excluirse los seis pacientes que ingresaron por emergencia y tuvieron mayor mortalidad, persiste la asociación entre mayor nivel de biopelículas y mayor mortalidad. Se compararon los análisis de regresión múltiple finales con y sin los pacientes que ingresaron por emergencia, y se encontraron las mismas variables asociadas (edad, comorbilidad y biopelículas de nivel alto), con la misma dirección y muy similar fuerza de asociación. Esto indica que los resultados son consistentes entre pacientes hospitalizados o que ingresaron por emergencia (Tabla 6).

## VII. DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran una asociación significativa entre los casos de candidemia con un alto nivel de formación de biopelículas *in vitro* y una mayor mortalidad. Esta asociación se presentó consistentemente tanto en pacientes sin tratamiento antibacteriano ni antifúngico, que tuvieron muertes muy tempranas, así como en pacientes que recibieron alguno de estos tratamientos, en los cuales los decesos observados se dieron progresivamente.

Este hallazgo confirma hipótesis planteadas en estudios previos que observaron mayor mortalidad en la candidemia con formación de biopelículas (61-65). Sin embargo, al evaluar múltiples aislamientos de un mismo paciente y analizar la mortalidad en solo un grupo de participantes, podría alterarse el estimado del incremento de la mortalidad y la generalización de los resultados a la población podría ser un poco limitada. (61). Así mismo, al evaluar únicamente población adulta, en la que se conoce que el riesgo de muerte es mayor, podría haberse sobreestimado la mortalidad asociada (62,64). Por otro lado, otros estudios no observaron asociación entre biopelículas y mayor mortalidad en la candidemia, pero algunos factores podrían haber prevenido mostrar resultados más concluyentes. En algunos estudios, la falta de ajuste por variables confusoras como la administración de terapia antifúngica, resistencia a fluconazol en las cepas evaluadas y otras variables que representen la severidad o complicación clínica de los pacientes (66, 67), podrían haber introducido confusión resultando en la no detección de la asociación entre biopelículas y mayor mortalidad. Por último,

ningún estudio previo (61-68) realizó un análisis de sobrevida para evaluar el momento y patrón temporal de la sobrevida de estos frágiles pacientes. Nuestro análisis de tiempo para evento mostró subgrupos claramente diferenciados y altamente relevantes para esclarecer la compleja relación entre la formación de biopelículas y la mortalidad, y el rol del tratamiento.

Nuestros hallazgos, con un diseño y análisis que responden a retos enfrentados en estudios previos, sugieren un posible rol de la formación de películas en la mortalidad de pacientes con candidemia que debe ser estudiado prospectivamente. Existen algunos posibles mecanismos que podrían explicar cómo la candidemia con alta formación de biopelículas conllevarían a una mayor mortalidad. Por ejemplo, las biopelículas permiten a las levaduras de *Candida* spp resistir la acción de los antifúngicos debido a la deficiencia en la penetración de éstos en la estructura de la biopelícula (15). Además, las biopelículas permiten a la levadura evadir la respuesta inmune del huésped ya que pueden actuar como una barrera física que impide la fagocitosis y altera el perfil de las citocinas secretadas por las células inmunitarias (20). De esa forma, las infecciones con cepas que producen biopelículas podrían impedir un tratamiento efectivo y representar un factor de riesgo para conllevar a un curso clínico complicado y potencialmente un desenlace fatal en los pacientes. Estudios prospectivos de estos posibles mecanismos de virulencia como la inactivación de los fármacos y la evasión al sistema inmune, ayudarán a entender mejor el rol de las biopelículas en el curso clínico de la infección.

Nuestro análisis de supervivencia permitió detectar la presencia de un subgrupo de pacientes con alta mortalidad temprana, lo cual sugiere una condición clínica basal muy vulnerable al ingresar a la cohorte y una peor prognosis (91,92). La identificación de dos grupos con diferencias drásticas en su tasa de letalidad y momento de muerte, evidenció un riesgo de muerte diferenciado asociado a recibir o no tratamiento antifúngico y tratamiento antibacteriano. La metodología del estudio se adaptó introduciendo una estratificación por tratamiento, pero consistentemente se observó una mayor mortalidad relacionada con la formación de biopelículas, independientemente del tratamiento recibido y nivel asociado de mortalidad. No se excluyó a los pacientes que tuvieron muerte temprana, pues eso hubiera impedido aprender y sacar conclusiones en quienes fallecen temprano, Ahora sabemos que la formación de biopelículas está asociada a la mortalidad temprana y que esto se da principalmente en pacientes que no reciben tratamiento. Adicionalmente, la formación de biopelículas también se asocia a muertes más tardías.

La menor mortalidad observada en pacientes que recibieron terapia antibacteriana no ha sido descrita previamente, y podría ser un efecto artificial del manejo profiláctico hospitalario. Los pacientes con candidemia con frecuencia reciben terapia antibacteriana conjuntamente con antifúngicos debido a que corren el riesgo de desarrollar infecciones bacterianas severas (93). En nuestro estudio, casi todos los pacientes que recibieron antifúngicos también recibieron antibacterianos (102/107=95.3%), y la mayoría de los pacientes que no recibieron antifúngicos tampoco recibieron antibacterianos (24/33=72.7%). Consistentemente, sería poco

plausible que el tratamiento antibacteriano reduzca significativamente la mortalidad de la candidemia, pues pocos pacientes se les diagnosticó infección concomitante (solo 12.1%, 17/140), aun sumando infecciones bacterianas, parasitarias y virales. Por otro lado, la mayoría de los pacientes que no recibieron terapia antibacteriana, y que coincidentemente tampoco recibieron terapia antifúngica fallecieron muy tempranamente. Estudios futuros deberían evaluar prospectivamente si en pacientes con un estado de salud precario y alto riesgo de muerte al presentar candidemia, su mayor mortalidad se debe a que la práctica médica prioriza instaurar terapias paliativas antes que intervenciones curativas.

La evaluación del rol de la terapia antifúngica en la mortalidad de la candidemia pudo haberse afectado debido a la estratificación de la muestra. Pese a ello, la asociación marginalmente significativa encontrada sugiere la presencia de un efecto protector. Además, encontramos que el tratamiento antifúngico tardío o en dosis insuficientes estuvo asociado a mayor mortalidad en la candidemia. Diversos estudios, en la línea de lo encontrado por nosotros, concluyeron que el mayor impacto de la terapia antifúngica en la candidemia se da según su aplicación adecuada o no (52,57,60). Por ello, la terapia antimicótica podría jugar un rol importante en el desenlace de la candidemia reduciendo considerablemente la mortalidad, más aún cuando es instaurada dentro de las 48 horas posterior al diagnóstico y al menos durante 5 días consecutivos.

Por otro lado, la literatura documenta que la formulación lipídica de anfotericina B y las equinocandinas tienen actividad contra biopelículas de *Candida* spp (55,56).

Sin embargo, nosotros no encontramos asociación entre el uso de estos antifúngicos y la mortalidad de la candidemia. Nuestros resultados mostrarían que la terapia antifúngica en general, con o sin actividad anti-biopelícula, tienen similar efecto sobre la candidemia. Además, no se puede determinar si la mortalidad de la candidemia no se redujo con estas terapias, o si existió una pequeña reducción de la mortalidad asociada a terapias antifúngicas contra biopelículas, pero faltó potencia estadística para detectarla. La evaluación de estos antifúngicos en estudios prospectivos y con mayor tamaño de muestra podría documentar mejor el efecto de estos antifúngicos en la candidemia causada por cepas de productoras de biopelículas.

La adultez, tener más de 15 años de edad, (44,50) y la presencia de alguna comorbilidad (94-96), similar a estudios previos, junto con la procedencia de la emergencia hospitalarias se encontraron como factores fuertemente asociados a una mayor mortalidad de la candidemia. Estos factores probablemente describen una condición clínica más frágil de los pacientes, por lo que podrían sugerir una peor prognosis en pacientes con candidemia. Estos resultados empíricos reflejan el importante rol de la condición clínica basal de los pacientes en su posible supervivencia, y deben continuar siendo evaluados en futuros estudios prospectivos.

En resumen, el incremento de la mortalidad en los pacientes infectados con cepas de *Candida* spp productoras de biopelículas sugiere que las biopelículas actúan como un factor de virulencia que complicaría el curso clínico de los pacientes. Este hallazgo debe ser validado en estudios prospectivos para determinar si debe

realizarse rutinariamente la detección de la formación de biopelículas en los aislamientos clínicos de candidemia y evaluarse el efecto de la terapia antifúngica con actividad sobre biopelículas.

El estudio tuvo algunas particularidades que deben ser consideradas en la interpretación de los hallazgos, pero no invalidan los resultados ni conclusiones. Primero, no se evaluó el estadio ni el estatus del cáncer, variables que pueden indicar la severidad del estado clínico del paciente. Sin embargo, otras variables capturan la posible fragilidad del estado clínico basal, como la atención en el departamento de emergencia hospitalaria, la presencia de enfermedades crónicas y la edad avanzada. Segundo, tampoco se evaluó en general la severidad de la condición de salud de los pacientes, pues esto no se realiza rutinariamente en todos los pacientes atendidos en el INEN. Adicionalmente, no existe una única escala de consenso para evaluar severidad en pacientes internados en las diversas unidades hospitalarias, incluyendo UCI. Existen escalas como la APACHE II, que es un predictor de muerte en candidemia, pero no son aplicables a pacientes fuera de UCI (77.9% de la muestra) ni tampoco a la población pediátrica (20.0% de la muestra). Tercero, el tamaño de muestra efectivo se redujo parcialmente al analizarse separadamente los pacientes que recibieron algún tratamiento antifúngico o antibacteriano (82.9% de la muestra). Aunque se detectaron múltiples diferencias significativas incluyendo aquellas relacionadas a la hipótesis de estudio, podría haber otras asociaciones que tuvieron insuficiente potencia estadística para ser detectadas, y que deben ser confirmadas con mayor tamaño de muestra. Finalmente, la revisión de historias clínicas incompletas pudo haber introducido sesgos o limitar



los análisis cuando la información estaba incompleta. Sin embargo, se espera que esta eventual falta de datos o sesgos sólo introduzca mala clasificación no diferencial sin alterar la significancia de las diferencias observadas. En resumen, se utilizaron variables proxy que capturan la condición clínica de los pacientes y se sugiere estudiar prospectivamente un mayor número de pacientes para confirmar las asociaciones encontradas con falta de significancia estadística.

## VIII. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

- La consistencia de la asociación observada entre la candidemia con formación de biopelículas *in vitro* y un mayor riesgo de muerte es un nivel más de evidencia de una posible asociación causal. Esta consistencia de la asociación, uno de los criterios de causalidad de Bradford-Hill, sugiere que la asociación observada podría tener una posible base causal.
- El análisis de sobrevivencia en un estudio de tiempo a evento es indispensable para detectar diferencias en las probabilidades de desarrollar el desenlace, en nuestro estudio este análisis permitió asegurar una adecuada evaluación del real riesgo de muerte que tenían los pacientes desde su ingreso a la cohorte.
- La adultez, tener más 15 años, la presencia de comorbilidades y la procedencia de la emergencia hospitalaria representaron la condición clínica frágil de los pacientes y su asociación con un mayor riesgo de muerte coincide con lo encontrado en estudio previos.
- La evaluación de manera prospectiva y con un mayor tamaño de muestra del posible rol de la formación de películas en la mortalidad de pacientes con candidemia permitirá superar limitaciones como la falta de potencia estadística y la generalización de los resultados.

## IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cole, G. T., Halawa, A. A., & Anaissie, E. J. The role of the gastrointestinal tract in hematogenous candidiasis: from the laboratory to the bedside. *Clinical Infectious Diseases*. 1996. 22(Supplement\_2), S73-S88.
2. Bjornson, H. S., Colley, R., Bower, R. H., Duty, V. P., Schwartz-Fulton, J. T., & Fischer, J. E. Association between microorganism growth at the catheter insertion site and colonization of the catheter in patients receiving total parenteral nutrition. *Surgery*. 1982 92(4), 720-727.
3. SPEBAH, M. J., & Pruitt Jr, B. A. Candidiasis in the burned patient. *Journal of Trauma and Acute Care Surgery*. 1981, 21(3), 237-239.
4. Bassetti, M., Righi, E., Costa, A., Fasce, R., Molinari, M. P., Rosso, R., ... & Viscoli, C. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. *BMC Infectious Diseases*. 2006. 6(1), 1-6.
5. Perlroth, J., Choi, B., & Spellberg, B. Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Medical mycology*. 2007 45(4), 321-346.
6. Viscoli, C., Girmenia, C., Marinus, A., Collette, L., Martino, P., Vandercam, B., ... & Invasive Fungal Infection Group of the EORTC. 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). *Clinical infectious diseases*. 1999. 28(5), 1071-1079.
7. Hung, C. C., Chen, Y. C., Chang, S. C., Luh, K. T., & Hsieh, W. C. Nosocomial candidemia in a university hospital in Taiwan. *Journal of the Formosan Medical Association*. 1996. 95(1), 19-28.
8. Nucci, M., Pulcheri, W., Spector, N., Bueno, A. P., Bacha, P. C., Caiuby, M. J., ... & Oliveira, H. P. D. (1995). Fungal infections in neutropenic patients: a 8-year prospective study. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 37, 397-406.
9. Hajjeh, R. A., Sofair, A. N., Harrison, L. H., Lyon, G. M., Arthington-Skaggs, B. A., Mirza, S. A., ... & Warnock, D. W. Incidence of bloodstream infections due to *Candida* species and in vitro susceptibilities of isolates

- collected from 1998 to 2000 in a population-based active surveillance program. *Journal of clinical microbiology*. 2004. 42(4), 1519-1527.
- 10 Pemán, J., Canton, E., & Gobernado, M. Epidemiology and antifungal susceptibility of *Candida* species isolated from blood: results of a 2-year multicentre study in Spain. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2005. 24(1), 23-30.
  - 11 Trick, W. E., Fridkin, S. K., Edwards, J. R., Hajjeh, R. A., Gaynes, R. P., & National Nosocomial Infections Surveillance System Hospitals. Secular trend of hospital-acquired candidemia among intensive care unit patients in the United States during 1989–1999. *Clinical infectious diseases*. 2002. 35(5), 627-630.
  12. Basu, S., Gugrani, H. C., Joshi, S., & Gupta, N. Distribution of *Candida* species in different clinical sources in Delhi, India, and proteinase and phospholipase activity of *Candida albicans* isolates. *REVISTA IBEROAMERICANA DE MICOLOGIA*. 2003., 20(4), 137-140.
  13. Shin, J. H., Kee, S. J., Shin, M. G., Kim, S. H., Shin, D. H., Lee, S. K., ... & Ryang, D. W. Biofilm production by isolates of *Candida* species recovered from nonneutropenic patients: comparison of bloodstream isolates with isolates from other sources. *Journal of clinical microbiology*. 2002. 40(4), 1244-1248.
  14. Růzicka, F., Hola, V., Votava, M., & Tejkalová, R. Detection and significance of biofilm formation in yeasts isolated from hemocultures. *Klinická Mikrobiologie a Infekční Lekarství*. 2006. 12(4), 150-155.
  15. Douglas, L. J. *Candida* biofilms and their role in infection. *Trends in microbiology* 2003. 11(1), 30-36.
  16. Kumamoto, C. A., & Vines, M. D. Alternative *Candida albicans* lifestyles: growth on surfaces. *Annu. Rev. Microbiol.* 2005. 59, 113-133.
  17. Al-Fattani, M. A., & Douglas, L. J. Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*: chemical composition and role in drug resistance. *Journal of medical microbiology*. 2006. 55(8), 999-1008.
  18. Mukherjee, P. K., Chandra, J., Kuhn, D. M., & Ghannoum, M. A.

- Mechanism of fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms: phase-specific role of efflux pumps and membrane sterols. *Infection and immunity* 2003. 71(8), 4333-4340.
19. Nett, J., Lincoln, L., Marchillo, K., Massey, R., Holoyda, K., Hoff, B., ... & Andes, D. Putative role of  $\beta$ -1, 3 glucans in *Candida albicans* biofilm resistance. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2007. 51(2), 510-520.
  20. Tsui, C., Kong, E. F., & Jabra-Rizk, M. A. Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. *Pathogens and disease*. 2016. 74(4).
  21. Uppuluri, P., Chaturvedi, A. K., Srinivasan, A., Banerjee, M., Ramasubramaniam, A. K., Köhler, J. R., & Lopez-Ribot, J. L. Dispersion as an important step in the *Candida albicans* biofilm developmental cycle. *PLoS Pathog.* 2010. 6(3), e1000828.
  22. Hasan F, Xess I, Wang X, Jain N, Fries BC. Biofilm formation in clinical *Candida* isolates and its association with virulence. *Microbes Infect.* 2009. 11: 753–61.
  23. Pfaller, M. A., & Diekema, D. Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical microbiology reviews*. 2007. 20(1), 133-163.
  24. Pappas, P. G. Invasive candidiasis. *Infectious Disease Clinics*. 2006. 20(3), 485-506.
  25. Sievert, D. M., Ricks, P., Edwards, J. R., Schneider, A., Patel, J., Srinivasan, A., ... & Fridkin, S. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2009–2010. *Infection Control & Hospital Epidemiology*. 2013. 34(1), 1-14.
  26. 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. *Clinical infectious diseases*. 2004. 39(3), 309-317.
  27. Nucci, M., Queiroz-Telles, F., Alvarado-Matute, T., Tiraboschi, I. N., Cortes, J., Zurita, J., & Echevarria, J. I. Epidemiology of candidemia in Latin

- America: a laboratory-based survey. *PloS one*. 2013. 8(3), e59373.
28. Asmundsdóttir LR, Erlendsdóttir H, Gottfredsson M. Increasing incidence of candidemia: results from a 20-year nationwide study in Iceland. *J Clin Microbiol*. 2002. 4: 3489–92.
  29. Sendid, B., Cotteau, A., François, N., d'Haveloose, A., Standaert, A., Camus, D., & Poulain, D. Candidaemia and antifungal therapy in a French University Hospital: rough trends over a decade and possible links. *BMC infectious diseases*. 2006. 6(1), 1-9.
  30. Celebi, S., Hacimustafaoglu, M., Ozdemir, O., & Ozkaya, G. Nosocomial candidaemia in children: results of a 9-year study. *Mycoses*. 2008. 51(3), 248-257.
  31. Fortún, J., Martín-Dávila, P., de la Pedrosa, E. G. G., Pintado, V., Cobo, J., Fresco, G., & Agundez, M. Emerging trends in candidemia: a higher incidence but a similar outcome. *Journal of Infection*. 2012. 65(1), 64-70.
  32. Oud, L. Secular trends in utilization of critical care services among Candidemia-Associated Hospitalizations: A Population-Based Cohort Study. *Journal of clinical medicine research*. 2015. 8(1), 40-43.
  33. Colombo, A. L., Nucci, M., Park, B. J., Nouér, S. A., Arthington-Skaggs, B., da Matta, D. A., ... & Morgan, J. Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in eleven medical centers. *Journal of clinical microbiology*. 2006. 44(8), 2816-2823.
  34. Horn DL, Neofytos D, Anaissie EJ, Fishman JA, Steinbach WJ, et al. Epidemiology and outcomes of candidemia in 2019 patients: data from the prospective antifungal therapy alliance registry. *Clin Infect Dis*. 2009. 48: 1695–703.
  35. Bassetti, M., Taramasso, L., Nicco, E., Molinari, M. P., Mussap, M., & Viscoli, C. Epidemiology, species distribution, antifungal susceptibility and outcome of nosocomial candidemia in a tertiary care hospital in Italy. *PLoS one*. 2011. 6(9), e24198.
  36. Zaoutis, T. E., Argon, J., Chu, J., Berlin, J. A., Walsh, T. J., & Feudtner, C. The epidemiology and attributable outcomes of candidemia in adults and children hospitalized in the United States: a propensity analysis. *Clinical*

- infectious diseases*. 2005. *41*(9), 1232-1239.
37. Sipsas, N. V., Lewis, R. E., Tarrand, J., Hachem, R., Rolston, K. V., Raad, I. I., & Kontoyiannis, D. P. Candidemia in patients with hematologic malignancies in the era of new antifungal agents (2001-2007). *Cancer*. 2009. *115*(20), 4745-4752.
  38. Z. Sabino, R., Verissimo, C., Brandao, J., Alves, C., Parada, H., Rosado, L., & Pais, C. Epidemiology of candidemia in oncology patients: a 6-year survey in a Portuguese central hospital. *Medical mycology*. 2010. *48*(2), 346-354.
  39. Meunier, F., Aoun, M., & Bitar, N. Candidemia in immunocompromised patients. *Clinical infectious diseases*. 1992. *14*(Supplement\_1), S120-S125.
  40. Pittet, D., & Wenzel, R. P. Nosocomial bloodstream infections: secular trends in rates, mortality, and contribution to total hospital deaths. *Archives of internal medicine*. 1995. *155*(11), 1177-1184.
  41. Leleu, G., Aegerter, P., & Guidet, B. Systemic candidiasis in intensive care units: a multicenter, matched-cohort study. *Journal of critical care*. 2002. *17*(3), 168-175.
  42. Wilson, L. S., Reyes, C. M., Stolpman, M., Speckman, J., Allen, K., & Beney, J. The direct cost and incidence of systemic fungal infections. *Value in Health*. 2002. *5*(1), 26-34.
  43. Bergamasco, M. D., Garnica, M., Colombo, A. L., & Nucci, M. Epidemiology of candidemia in patients with hematologic malignancies and solid tumours in Brazil. *Mycoses*. 2013. *56*(3), 256-263.
  44. Colombo, A. L., Guimarães, T., Sukienik, T., Pasqualotto, A. C., Andreotti, R., Queiroz-Telles, F., & Nucci, M. Prognostic factors and historical trends in the epidemiology of candidemia in critically ill patients: an analysis of five multicenter studies sequentially conducted over a 9-year period. *Intensive care medicine*. 2014. *40*(10), 1489-1498.
  45. Raza, A., Zafar, W., Mahboob, A., Nizammudin, S., Rashid, N., & Sultan, F. Clinical features and outcomes of Candidaemia in cancer patients: Results from Pakistan. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*. 2016. *66*(5), 584-589.
  46. Bassetti, M., Righi, E., Ansaldi, F., Merelli, M., Cecilia, T., De Pascale, G.,

- & Trecarichi, E. M. A multicenter study of septic shock due to candidemia: outcomes and predictors of mortality. *Intensive care medicine*. 2014. 40(6), 839-845.
47. 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 infectious diseases*. 2013. 13(1), 337.
  48. Gokcebay, D. G., Yarali, N., Isik, P., Bayram, C., Ozkaya-Parlakay, A., Kara, A., & Tunç, B. Candida associated bloodstream infections in pediatric hematology patients: a single center experience. *Mediterranean journal of hematology and infectious diseases*. 2016. 8(1).
  49. Slavin, M. A., Sorrell, T. C., Marriott, D., Thursky, K. A., Nguyen, Q., Ellis, D. H., & Chen, S. C. A. Candidaemia in adult cancer patients: risks for fluconazole-resistant isolates and death. *Journal of antimicrobial chemotherapy*. 2010. 65(5), 1042-1051.
  50. Lortholary, O., Renaudat, C., Sitbon, K., Madec, Y., Denoeud-Ndam, L., Wolff, M., & French Mycosis Study Group. Worrisome trends in incidence and mortality of candidemia in intensive care units (Paris area, 2002–2010). *Intensive care medicine*. 2014. 40(9), 1303-1312.
  51. De Rosa, F. G., Trecarichi, E. M., Montrucchio, C., Losito, A. R., Raviolo, S., Posteraro, B., & Serra, R. Mortality in patients with early-or late-onset candidaemia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2012. dks480.
  52. Li, C., Wang, H., Yin, M., Han, H., Yue, J. F., Zhang, F., & Wu, D. W. The differences in the epidemiology and predictors of death between candidemia acquired in intensive care units and other hospital settings. *Internal Medicine*. 2015. 54(23), 3009-3016.
  53. Kojic, E. M., & Darouiche, R. O. Candida infections of medical devices. *Clinical microbiology reviews*. 2004. 17(2), 255-267.
  54. Kumamoto, C. A. Candida biofilms. *Current opinion in microbiology*. 2002. 5(6), 608-611.
  55. Kuhn, D. M., George, T., Chandra, J., Mukherjee, P. K., & Ghannoum, M. A. Antifungal susceptibility of Candida biofilms: unique efficacy of



- amphotericin B lipid formulations and echinocandins. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002. 46(6), 1773-1780
56. Simitopoulou, M., Peshkova, P., Tasina, E., Katragkou, A., Kyrpitzis, D., Velegaki, A., & Roilides, E. Species-specific and drug-specific differences in susceptibility of *Candida* biofilms to echinocandins: characterization of less common bloodstream isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2013. 57(6), 2562-2570.
  57. Garnacho-Montero, J., Díaz-Martín, A., García-Cabrera, E., de Pipaón, M. R. P., Hernández-Caballero, C., & Lepe-Jiménez, J. A. Impact on hospital mortality of catheter removal and adequate antifungal therapy in *Candida* spp. bloodstream infections. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2013. 68(1), 206-213.
  58. Andes, D. R., Safdar, N., Baddley, J. W., Playford, G., Reboli, A. C., Rex, J. H., ... & Mycoses Study Group. Impact of treatment strategy on outcomes in patients with candidemia and other forms of invasive candidiasis: a patient-level quantitative review of randomized trials. *Clinical infectious diseases*. 2012. cis021.
  59. Bassetti, M., Merelli, M., Ansaldi, F., De Florentiis, D., Sartor, A., Scarparo, C., & Righi, E. Clinical and therapeutic aspects of candidemia: a five-year single centre study. *PLoS One*. 2015. 10(5), e0127534.
  60. Tedeschi, S., Tumietto, F., Giannella, M., Bartoletti, M., Cristini, F., Cioni, G., & Viale, P. Epidemiology and outcome of candidemia in internal medicine wards: A regional study in Italy. *European Journal of Internal Medicine*. 2016. 34, 39-44.
  61. Rajendran, R., Sherry, L., Nile, C. J., Sherriff, A., Johnson, E. M., Hanson, M. F., & Ramage, G. Biofilm formation is a risk factor for mortality in patients with *Candida albicans* bloodstream infection—Scotland, 2012–2013. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016. 22(1), 87-93.
  62. Tumbarello, M., Fiori, B., Treccarichi, E. M., Posteraro, P., Losito, A. R., De Luca, A., & Posteraro, B. Risk factors and outcomes of candidemia caused by biofilm-forming isolates in a tertiary care hospital. *PloS one*. 2012. 7(3), e33705.

63. Tumbarello, M., Posteraro, B., Trecarichi, E. M., Fiori, B., Rossi, M., Porta, R., & Cauda, R. Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. *Journal of clinical microbiology*. 2007. 45(6), 1843-1850.
64. Tascini, C., Sozio, E., Corte, L., Sbrana, F., Scarparo, C., Ripoli, A., ... & Bassetti, M. The role of biofilm forming on mortality in patients with candidemia: a study derived from real world data. *Infectious diseases*. 2018. 50(3), 214-219.
65. Vitális, E., Nagy, F., Tóth, Z., Forgács, L., Bozó, A., Kardos, G., ... & Kovács, R. *Candida* biofilm production is associated with higher mortality in patients with candidaemia. *Mycoses*. 2020. 63(4), 352-360.
66. Guembe, M., Guinea, J., Marcos-Zambrano, L., Fernández-Cruz, A., Peláez, T., Muñoz, P., & Bouza, E. Is biofilm production a predictor of catheter-related candidemia? *Medical mycology*. 2014. 52(4), 407-410.
67. Pongrácz, J., Benedek, K., Juhász, E., Iván, M., & Kristóf, K. In vitro biofilm production of *Candida* bloodstream isolates: any association with clinical characteristics? *Journal of medical microbiology*. 2016. 65(4), 272-277.
68. Muñoz, P., Agnelli, C., Guinea, J., Vena, A., Álvarez-Uría, A., Marcos-Zambrano, L. J. & Bouza, E. Is biofilm production a prognostic marker in adults with candidaemia?. *Clinical Microbiology and Infection*. 2018. 24(9), 1010-1015.
69. Donlan, R. M., & Costerton, J. W. Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. *Clinical microbiology reviews*. 2002. 15(2), 167-193.
70. Seneviratne, C. J., Jin, L., & Samaranayake, L. P. Biofilm lifestyle of *Candida*: a mini review. *Oral diseases*. 2008. 14(7), 582-590.
71. Chandra, J., & Mukherjee, P. K. *Candida* biofilms: development, architecture, and resistance. *Microbiology spectrum*. 2015. 3(4), 3-4.
72. Nett, J. E., & Andes, D. R. Contributions of the biofilm matrix to *Candida* pathogenesis. *Journal of Fungi*. 2020. 6(1), 21.
73. Targalska, M., & Kunicka-Styczyńska, A. *Candida* biofilms: Environmental and clinical aspects. In *The Yeast Role in Medical Applications*. 2017.

IntechOpen

74. Cavalheiro, M., & Teixeira, M. C. Candida biofilms: threats, challenges, and promising strategies. *Frontiers in medicine*. 2018. 5, 28
75. Taff HT, Nett JE, Andes DR Comparative analysis of Candida biofilm quantitation assays. *Medical mycology*. 2012. 50: 214-218
76. Dhale, R. P., Ghorpade, M. V., & Dharmadhikari, C. A. Comparison of various methods used to detect biofilm production of Candida species. *Journal of clinical and diagnostic research: JCDR*. 2014. 8(11), DC18
77. Riedel, S., Eisinger, S. W., Dam, L., Stamper, P. D., & Carroll, K. C. Comparison of BD Bactec Plus Aerobic/F medium to VersaTREK Redox 1 blood culture medium for detection of Candida spp. in seeded blood culture specimens containing therapeutic levels of antifungal agents. *Journal of clinical microbiology*. 2011. 49(4), 1524-1529.
78. Jekarl, D. W., Lee, S. Y., Lee, S., Park, Y. J., Lee, J., Baek, S. M., & Lee, M. K. Comparison of the Bactec Fx Plus, Mycosis IC/F, Mycosis/F Lytic blood culture media and the BacT/Alert 3D FA media for detection of Candida species in seeded blood culture specimens containing therapeutic peak levels of fluconazole. *Journal of clinical laboratory analysis*. 2012. 26(6), 412-419.
79. Viganò, E. F., Vasconi, E., Agrappi, C., & Clerici, P. Use of simulated blood cultures for time to detection comparison between BacT/ALERT™ and BACTEC™ 9240 blood culture systems. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2002. 44(3), 235-240.
80. McGinnis, M. R. *Laboratory handbook of medical mycology*. 2012. Elsevier.
81. Odds, F. C., & Bernaerts, R. I. A. CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important Candida species. *Journal of clinical microbiology*. 1994. 32(8), 1923-1929.
82. Buesching, W. J., Kurek, K., & Roberts, G. D. Evaluation of the modified API 20C system for identification of clinically important yeasts. *Journal of clinical microbiology*. 1979. 9(5), 565-569.

83. Land, G. A., Harrison, B. A., Hulme, K. L., Cooper, B. H., & Byrd, J. C. Evaluation of the new API 20C strip for yeast identification against a conventional method. *Journal of clinical microbiology*. 1979. 10(3), 357-364.
84. Pfaller, M. A., Diekema, D. J., Messer, S. A., Boyken, L., & Hollis, R. J. Activities of fluconazole and voriconazole against 1,586 recent clinical isolates of *Candida* species determined by Broth microdilution, disk diffusion, and Etest methods: report from the ARTEMIS Global Antifungal Susceptibility Program, 2001. *Journal of clinical microbiology*. 2003. 41(4), 1440-1446.
85. Barry, A. L., Pfaller, M. A., Rennie, R. P., Fuchs, P. C., & Brown, S. D. Precision and accuracy of fluconazole susceptibility testing by broth microdilution, Etest, and disk diffusion methods. *Antimicrobial agents and chemotherapy*. 2002. 46(6), 1781-1784.
86. Taff HT, Nett JE, Andes DR. Comparative analysis of *Candida* biofilm quantitation assays. *Medical mycology*. 2012. 50: 214-218.
87. World Health Organization. *International classification of diseases for oncology (ICD-O)*. World Health Organization. 2013.
88. Tumbarello, M., Posteraro, B., Treccarichi, E. M., Fiori, B., Rossi, M., Porta, R., ... & Sanguinetti, M. Biofilm production by *Candida* species and inadequate antifungal therapy as predictors of mortality for patients with candidemia. *Journal of clinical microbiology*. 2007. 45(6), 1843-1850.
89. Liu, C. Y., Huang, L. J., Wang, W. S., Chen, T. L., Yen, C. C., Yang, M. H., ... & Chiou, T. J. Candidemia in cancer patients: impact of early removal of non-tunneled central venous catheters on outcome. *Journal of Infection*. 2009. 58(2), 154-160.
88. Kleinbaum, D. G., & Klein, M. The stratified Cox procedure. In *Survival analysis*. 2012. (pp. 201-240). Springer, New York, NY.
91. Murri, R., Scoppettuolo, G., Ventura, G., Fabbiani, M., Giovannenze, F., Taccari, F., ... & Fantoni, M. Initial antifungal strategy does not correlate with mortality in patients with candidemia. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*. 2016. 35(2), 187-193.

92. Takuma, T., Shoji, H., & Niki, Y. Terminal-stage prognostic analysis in candidemia. *Journal of Infection and Chemotherapy*. 2015. 21(5), 376-380.
93. Stergiopoulou, T., Meletiadis, J., Sein, T., Papaioannidou, P., Tsiouris, I., Roilides, E., et al. Comparative pharmacodynamic interaction analysis between ciprofloxacin, moxifloxacin and levofloxacin and antifungal agents against *Candida albicans* and *Aspergillus fumigatus*. *J. Antimicrob. Chemother.* 2009. 63, 343–348. doi: 10.1093/jac/dkn473
94. Ala-Houhala, M., Valkonen, M., Kolho, E., Friberg, N., & Anttila, V. J. Clinical and microbiological factors associated with mortality in candidemia in adult patients 2007–2016. *Infectious Diseases*. 2019. 51(11-12), 824-830.
95. Falagas, M. E., Apostolou, K. E., & Pappas, V. D. Attributable mortality of candidemia: a systematic review of matched cohort and case-control studies. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2006. 25(7), 419-425.
96. Velasco, E., & Bigni, R. A prospective cohort study evaluating the prognostic impact of clinical characteristics and comorbid conditions of hospitalized adult and pediatric cancer patients with candidemia. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. 2008. 27(11), 1071-1078.

**Tabla 1. Características epidemiológicas, clínicas, microbiológicas y desenlace de 140 casos de candidemia**

<b>Características</b>	<b>N (%)</b>
<b>Sexo</b>	
Masculino	64 (45.7)
Femenino	76 (54.3)
<b>Edad (años)</b>	
0 - 15	28 (20.0)
16 - 59	82 (58.6)
≥ 60	30 (21.4)
<b>Tipo de neoplasia</b>	
Tumores sólidos	59 (42.1)
Neoplasias hematológicas	81 (57.9)
<b>Diagnóstico oncológico</b>	
Leucemia mieloide aguda	19 (13.6)
Leucemia linfocítica aguda	36 (25.7)
Linfoma no Hodgkin	15 (10.7)
Tumor gastrointestinal	31 (22.2)
Tumor genitourinario	15 (10.7)
Otros*	24 (17.1)
<b>Comorbilidad</b>	
No	95 (67.9)
Enfermedad infecciosa	17 (12.2)
Enfermedad respiratoria	10 (7.1)
Otros**	9 (6.4)
Más de una enfermedad	9 (6.4)
<b>Procedencia</b>	
Hospitalización	132 (94.3)
Emergencia	8 (5.7)
<b>Neutropenia</b>	
No	83 (59.3)
Si	57 (40.7)
<b>Terapia inmunosupresora</b>	
No	80 (57.1)
Si	60 (42.9)
<b>Terapia antibacteriana</b>	
No	29 (20.7)
Si	111 (79.3)
<b>Terapia antifúngica</b>	
No	33 (23.6)
Si	107 (76.4)
<b>Terapia antifúngica adecuada</b>	

Si	87 (62.1)
No	53 (37.9)
<b>Terapia antifúngica anti-biopelículas</b>	
Sin terapia	33 (23.6)
Con actividad contra biopelículas	66 (47.1)
Sin actividad contra biopelículas	41 (29.3)
<b>Estancia en UCI</b>	
No	109 (77.9)
Si	31 (22.1)
<b>Ventilación mecánica</b>	
No	99 (70.7)
Si	41 (29.3)
<b>Presencia de catéter venoso central</b>	
No	50 (35.7)
Si	90 (64.3)
<b>Presencia de catéter urinario</b>	
No	94 (67.1)
Si	46 (32.9)
<b>Nutrición parenteral</b>	
No	100 (71.4)
Si	40 (28.6)
<b>Etiología</b>	
<i>C. albicans</i>	48 (34.3)
<i>C. tropicalis</i>	67 (47.9)
<i>C. parapsilosis</i>	9 (6.4)
<i>C. glabrata</i>	10 (7.1)
Otros***	6 (4.3)
<b>Resistencia a Fluconazol</b>	
No	91 (72.8)
Si	34 (27.2)
<b>Nivel de formación de biopelículas</b>	
No	34 (24.3)
Bajo	72 (51.4)
Medio	25 (17.9)
Alto	9 (6.4)
<b>Mortalidad</b>	
No	75 (53.6)
Si	65 (46.4)
*(7) Tumor de cabeza y cuello (6) Leucemia Mieloide Crónica (3) Linfoma Hodgkin, osteosarcoma (2) Histocitosis (1) Tumor de hígado, tumor de mama, tumor de piel	
**(3) Enf. Genitourinaria, Enf. Gastrointestinal (2) diabetes (1) Síndrome Down	
***(4) <i>C. lusitanae</i> (2) <i>C. guilliermondii</i>	

**Tabla 2. Características epidemiológicas, clínicas y microbiológicas de 140 casos de candidemia según mortalidad**

Variables	Sobrevivientes	Fallecidos	Regresión de Cox		
	N (%)	N (%)	Valor p	Valor p	Proporcionalidad
Sexo			0.560	0.755	0.163
Masculino	36 (56.3)	28 (43.7)			
Femenino	39 (51.3)	37 (48.7)			
Edad (años cumplidos)			0.034†	<0.001	0.624
0 - 15	23 (82.1)	5 (17.9)			
16 - 59	36 (43.9)	46 (56.1)			
≥ 60	16 (53.3)	14 (46.7)			
Tipo de neoplasia			0.132	0.603	0.333
Tumores sólidos	36 (61.0)	23 (39.0)			
Neoplasias hematológicas	39 (48.1)	42 (51.9)			
Diagnóstico oncológico			0.674	0.779	0.393
Leucemia mieloide aguda	11 (57.9)	8 (42.1)			
Leucemia linfocítica aguda	19 (52.8)	17 (47.2)			
Linfoma no Hodgkin	6 (40.0)	9 (60.0)			
Tumor gastrointestinal	20 (64.5)	11 (35.5)			
Tumor genitourinario	7 (46.7)	8 (53.3)			
Otros*	12 (50.0)	12 (50.0)			
Comorbilidad			0.003	0.021	0.745
No	59 (62.1)	36 (37.9)			
Si	16 (35.6)	29 (64.4)			
Tipo de comorbilidad			0.011	0.015	0.426
No	59 (62.1)	36 (37.9)			
Enfermedad infecciosa	6 (35.3)	11 (64.7)			
Enfermedad respiratoria	1 (10.0)	9 (90.0)			
Otros**	5 (55.6)	4 (44.4)			
Mas de una enfermedad	4 (44.4)	5 (55.6)			
Procedencia			0.016	0.0043	0.993
Hospitalización	74 (56.1)	58 (43.9)			
Emergencia	1 (12.5)	7 (87.5)			
Neutropenia			0.223	0.691	0.256
No	48 (57.8)	35 (42.2)			
Si	27 (47.4)	30 (52.6)			
Terapia inmunosupresora			0.525	0.083	0.048
No	41 (51.3)	39 (48.7)			
Si	34 (56.7)	26 (43.3)			
Terapia antibacteriana			0.021	<0.001	0.001
No	10 (34.5)	19 (65.5)			



Si	65 (58.6)	46 (41.4)			
Terapia antifúngica			0.023	<0.001	0.033
No	12 (36.4)	21 (63.6)			
Si	63 (58.9)	44 (41.1)			
Terapia antifúngica adecuada			0.010	<0.001	0.002
Si	54 (62.1)	33 (37.9)			
No	21 (39.6)	32 (60.4)			
Terapia antifúngica anti-biopelículas			0.072	<0.001	0.041
Sin terapia	12 (36.4)	21 (63.4)			
Con actividad contra biopelículas	38 (57.6)	28 (42.4)			
Sin actividad contra biopelículas	25 (61.0)	16 (39.0)			
Estancia en UCI			0.141	0.528	0.503
No	62 (56.9)	47 (43.1)			
Si	13 (41.9)	18 (58.1)			
Ventilación mecánica			0.065	0.425	0.314
No	58 (58.6)	41 (41.4)			
Si	17 (41.5)	24 (58.5)			
Presencia de catéter venosos central			0.041	<0.001	0.087
No	21 (42.0)	29 (58.0)			
Si	54 (60.0)	36 (40.0)			
Presencia de catéter urinario			0.189	0.698	0.239
No	54 (57.5)	40 (42.5)			
Si	21 (45.6)	25 (54.4)			
Nutrición parenteral			0.592	0.706	0.108
No	55 (55.0)	45 (45.0)			
Si	20 (50.0)	20 (50.0)			
Etiología			0.541	0.508	0.549
<i>C. albicans</i>	24 (50.0)	24 (50.0)			
<i>Candida no albicans</i>	51 (55.4)	41 (44.6)			
Especies de <i>Candida</i>			0.332	0.477	0.264
<i>C. albicans</i>	24 (50.0)	24 (50.0)			
<i>C. tropicalis</i>	33 (49.3)	34 (50.7)			
<i>C. parapsilosis</i>	6 (66.7)	3 (33.3)			
<i>C. glabrata</i>	7 (70.0)	3 (30.0)			
Otros***	5 (83.3)	1 (16.7)			
Resistencia a fluconazol			0.834	0.764	0.731
No	50 (55.0)	41 (45.0)			
Si	18 (52.9)	16 (47.1)			
Nivel de formación de biopelículas			0.059	0.053	0.790
No	23 (67.7)	11 (32.3)			
Si	52 (49.1)	54 (50.9)			
Nivel de biopelículas			0.033†	0.029	0.652
Sin formación de biopelículas	23 (67.7)	11 (32.3)			

Bajo-medio	49 (50.5)	48 (49.5)
Alto	3 (33.3)	6 (66.7)
* Tumor de cabeza y cuello, Leucemia Mieloide Crónica, Linfoma Hodgkin, osteosarcoma, Histocitosis, Tumor de hígado, tumor de mama, tumor de piel		
** Enf. Genitourinaria, Enf. Gastrointestinal, diabetes, Síndrome Down		
*** <i>C. lusitaniae</i> , <i>C. guillermondii</i>		

**Tabla 3. Día de fallecimiento y el total de no fallecidos durante el seguimiento, estratificado según haber recibido tratamiento antifúngico y antibacteriano**

<b>Grupos</b>	<b>Ningún tratamiento (n = 24)</b>	<b>Sólo tratamiento antibacteriano (n = 9)</b>	<b>Sólo tratamiento antifúngico (n = 5)</b>	<b>Ambos tratamientos (n = 102)</b>	<b>Total (n = 140)</b>
<b>Total fallecidos</b>	17 (71%)	4 (44%)	2 (40%)	42 (41%)	65 (46%)
<b>Día de muerte</b>					
<b>1</b>	17 (100%)	1 (25%)	1 (50%)	2 (5%)	21 (32%)
<b>2 - 5</b>	0 (0%)	2 (50%)	1 (50%)	10 (24%)	13 (20%)
<b>6 - 15</b>	0 (0%)	1 (25%)	0 (0%)	18 (43%)	19 (29%)
<b>16 - 30</b>	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	12 (28%)	12 (19%)
<b>Total no fallecidos</b>	7	5	3	60	75
<b>% fallecidos en el día 1</b>	17/24 (71%)	1/9 (11%)	1/5 (20%)	2/102 (2%)	21/140 (15%)

**Tabla 4. Factores asociados a mortalidad en 24 pacientes sin tratamiento antibacteriano ni tratamiento antifúngico**

Variables	Sobrevivientes	Fallecidos	Valor p
	N (%)	N (%)	
Sexo			1.000
Masculino	4 (33.3)	8 (66.7)	
Femenino	3 (25.0)	9 (75.0)	
Edad (años)			0.077
0 - 15	0 (0)	0 (0)	
16 - 59	3 (17.7)	14 (82.4)	
≥ 60	4 (57.1)	3 (42.9)	
Tipo de neoplasia			0.006
Tumores sólidos	7 (53.9)	6 (46.1)	
Neoplasias hematológicas	0 (0)	11 (100.0)	
Comorbilidad			0.065
No	7 (41.2)	10 (58.8)	
Si	0 (0)	7 (100.0)	
Procedencia			1.000
Hospitalización	7 (31.8)	15 (68.2)	
Emergencia	0 (0)	2 (100.0)	
Neutropenia			0.130
No	7 (38.9)	11 (61.1)	
Si	0 (0)	6 (100.0)	
Terapia inmunosupresora			sin valor
No	7 (29.2)	17 (70.8)	
Si	0 (0)	0 (0)	
Estancia en UCI			1.000
No	7 (30.4)	16 (69.6)	
Si	0 (0)	1 (100.0)	
Ventilación mecánica			1.000
No	7 (30.4)	16 (69.6)	
Si	0 (0)	1 (100.0)	
Presencia de catéter venoso central			0.507
No	6 (27.3)	16 (72.7)	
Si	1 (50.0)	1 (50.0)	
Presencia de catéter urinario			1.000
No	7 (30.4)	16 (69.6)	
Si	0 (0)	1 (100.0)	
Nutrición parenteral			1.000
No	7 (30.4)	16 (69.6)	
Si	0 (0)	1 (100.0)	
Etiología			1.000

<i>C. albicans</i>	3 (33.3)	6 (66.7)	
<i>Candida no albicans</i>	4 (26.7)	11 (73.3)	
Resistencia a fluconazol			0.826
No	3 (23.1)	10 (76.9)	
Si	3 (42.9)	4 (57.1)	
Formación de biopelículas			0.059
No	3 (75.0)	1 (25.0)	
Si	4 (20.0)	16 (80.0)	
Nivel de biopelículas			0.049
Sin formación de biopelículas	3 (75.0)	1 (25.0)	
Bajo-medio	3 (17.7)	14 (82.3)	
Alto	1 (33.3)	2 (66.7)	

**Tabla 5. Factores asociados a mortalidad en 116 pacientes con tratamiento antibacteriano y antifúngico**

Regresión de Cox

Regresión de Poisson

Variables	Modelo crudo				Modelo ajustado†			Modelo ajustado		
	RH	IC 95%	valor p	Propor.	RH	IC 95%	Valor p	IRR	IC 95%	Valor p
Sexo				0.148						
Masculino	Ref.				Ref.					
Femenino	1.17	0.66 - 2.10	0.576		0.94	0.50 - 1.76	0.846			
Edad										
0 - 15	Ref.			0.977	Ref.			Ref.		
16 - 59	<b>3.61</b>	<b>1.40 - 9.27</b>	<b>0.008</b>		<b>4.27</b>	<b>1.64 - 11.11</b>	<b>0.003</b>	<b>2.78</b>	<b>1.33 - 5.79</b>	<b>0.006</b>
≥ 60	<b>3.87</b>	<b>1.34 - 11.16</b>	<b>0.012</b>		<b>5.88</b>	<b>1.98 - 17.44</b>	<b>0.001</b>	<b>3.54</b>	<b>1.64 - 7.63</b>	<b>0.001</b>
Tipo de neoplasia				0.161						
Tumores sólidos	Ref.				Ref.					
Neoplasias hematológicas	1.02	0.56 - 1.83	0.958		1.31	0.66 - 2.57	0.437			
Comorbilidad				0.540						
No	Ref.				Ref.			Ref.		
Si	<b>1.82</b>	<b>1.03 - 3.22</b>	<b>0.035</b>		<b>2.72</b>	<b>1.47 - 5.01</b>	<b>0.001</b>	<b>2.12</b>	<b>1.39 - 3.24</b>	<b>0.001</b>
Procedencia				0.741						
Hospitalización	Ref.				Ref.			Ref.		
Emergencia	<b>4.84</b>	<b>1.88 - 12.45</b>	<b>0.001</b>		<b>7.58</b>	<b>2.67 - 21.49</b>	<b>&lt;0.001</b>	<b>2.22</b>	<b>1.45 - 3.39</b>	<b>&lt;0.001</b>
Neutropenia				0.374						
No	Ref.				Ref.					
Si	1.19	0.67 - 2.09	0.553		1.29	0.72 - 2.34	0.394			
Terapia inmunosupresora				0.837						
No	Ref.				Ref.					
Si	1.02	0.58 - 1.80	0.946		1.09	0.61 - 1.97	0.769			
Terapia antibacteriana				0.189						
No	Ref.				Ref.					
Si	0.76	0.18 - 3.13	0.702		0.41	0.95 - 1.79	0.236			
Terapia antifúngica				0.958						
No	Ref.				Ref.					
Si	0.43	0.15 - 1.20	0.107		0.38	0.12 - 1.15	0.086			
Terapia antifúngica adecuada				0.295						
Si	Ref.				Ref.					
No	<b>2.18</b>	<b>1.18 - 4.02</b>	<b>0.013</b>		1.65	0.83 - 3.28	0.151			
Terapia antifúngica anti-biopelículas				0.405						
Sin terapia	Ref.				Ref.					
Con actividad contra biopelículas	0.47	0.16 - 1.36	0.164		0.41	0.13 - 1.27	0.121			
Sin actividad contra biopelículas	0.36	0.11 - 1.10	0.073		0.33	0.10 - 1.08	0.066			

Estancia en UCI				0.614						
No	Ref.			Ref.						
Si	1.60	0.88 - 2.89	0.121	1.51	0.80 - 2.85	0.208				
Ventilación mecánica				0.555						
No	Ref.			Ref.						
Si	<b>1.83</b>	<b>1.04 - 3.22</b>	<b>0.037</b>	1.34	0.73 - 2.47	0.350				
Presencia de catéter venoso central				0.754						
No	Ref.			Ref.						
Si	0.67	0.35 - 1.26	0.214	0.90	0.45 - 1.80	0.763				
Presencia de catéter urinario				0.656						
No	Ref.			Ref.						
Si	1.65	0.94 - 2.91	0.081	1.37	0.74 - 2.54	0.315				
Nutrición parenteral				0.666						
No	Ref.			Ref.						
Si	1.23	0.69 - 2.21	0.472	1.02	0.53 - 1.95	0.955				
Etiología				0.568						
<i>C. albicans</i>	Ref.			Ref.						
<i>Candida no albicans</i>	0.77	0.42 - 1.38	0.372	0.75	0.41 - 1.39	0.361				
Resistencia a fluconazol				0.477						
No	Ref.			Ref.						
Si	1.05	0.62 - 1.76	0.861	1.59	0.89 - 2.84	0.116				
Formación de biopelículas				0.340						
No	Ref.			Ref.						
Si	1.39	0.69 - 2.78	0.351	No analizable						
Nivel de biopelículas				0.208						
Sin formación de biopelículas	Ref.			Ref.			Ref.			
Bajo-medio	<b>1.30</b>	<b>0.64 - 2.62</b>	<b>0.472</b>	<b>1.30</b>	<b>0.62 - 2.75</b>	<b>0.492</b>	<b>1.43</b>	<b>0.80 - 2.53</b>	<b>0.224</b>	
Alto	<b>3.92</b>	<b>1.22 - 12.57</b>	<b>0.022</b>	<b>6.59</b>	<b>1.87 - 23.24</b>	<b>0.003</b>	<b>2.54</b>	<b>1.20 - 5.35</b>	<b>0.015</b>	



Tabla 6. Factores asociados a mortalidad de acuerdo a la procedencia de los pacientes

Variables	Hospitalización y emergencia (n=116)			Solo Hospitalización (n=110)		
	RH	IC 95%	valor p	RH	IC 95%	valor p
<b>Edad</b>						
0 - 15	Ref.			Ref.		
16 - 59	4.27	1.64 - 11.11	0.003	3.61	1.35 - 9.65	0.010
≥ 60	5.88	1.98 - 17.44	0.001	5.21	1.76 - 15.40	0.003
<b>Comorbilidad</b>						
No	Ref.			Ref.		
Si	2.72	1.47 - 5.01	0.001	2.53	1.36 - 4.70	0.003
<b>Procedencia</b>						
Hospitalización	Ref.					
Emergencia	7.58	2.67 - 21.49	<0.001			
<b>Nivel de biopelículas</b>						
No biopelículas	Ref.			Ref.		
Bajo-medio	1.30	0.62 - 2.75	0.492	1.47	0.67 - 3.20	0.337
Alto	6.59	1.87 - 23.24	0.003	7.28	1.83 - 28.96	0.005