



Grupo de Trabajo de Infección Fúngica Invasiva

Revisoras

Natalia Mendoza Palomar, Patricia Nadal Barón, María Teresa Martín Gómez.

Referencia del artículo

Fisher BT, Boge CLK, Xiao R, Shuster S, Chin-Quee D, Allen J, Shaheen S, Hayden R, Suganda S, Zaoutis TE, Chang YC, Yin DE, Huppler AR, Danziger-Isakov L, Muller WJ, Roilides E, Romero J, Sue PK, Berman D, Wattier RL, Halasa N, Pong A, Maron G, Soler-Palacin P, Hutto SC, Gonzalez BE, Salvatore CM, Rajan S, Green M, Doby Knackstedt E, Hauger SB, Steinbach WJ. Multicenter Prospective Study of Biomarkers for Diagnosis of Invasive Candidiasis in Children and Adolescents. *Clin Infect Dis*. 2022 Jan 20:ciab928. doi: 10.1093/cid/ciab928. Epub ahead of print. PMID: 35134165.

Pregunta y tipo de estudio

¿Cuál es el papel de los biomarcadores en la candidiasis invasiva (CI) pediátrica? Estudio prospectivo multicéntrico para evaluar el rendimiento de biomarcadores en población pediátrica con sospecha de candidiasis invasiva.

Resumen

1. Material y Métodos

Se trata de un estudio prospectivo observacional multicéntrico (BIOPIC: BIOmarkers in Pediatric Invasive Candidiasis), en el que participaron 23 hospitales de EEUU, 1 de España y 1 de Grecia; promovido por *The International Pediatric Fungal Network*.

A lo largo de un periodo de 5 años (2015-2019) se incluyeron pacientes con edades comprendidas entre 120 días y 18 años con sospecha clínica de candidiasis invasiva (CI), determinada por al menos una patología de base de riesgo y la coincidencia de 3 factores clínicos (portador de catéter venoso central, hemocultivo extraído por sospecha de infección y tratamiento antiinfeccioso iniciado o modificado por sospecha de infección). Se excluyeron del estudio los pacientes con diagnóstico de infección fúngica invasiva (IFI) de cualquier tipo en los 30 días previos, así como a los que estaban recibiendo tratamiento antifúngico empírico o dirigido (el uso en profilaxis, en cambio, sí se consideró aceptable) y los menores de 4 kg a causa del volumen de sangre necesario para la realización de los estudios.

Se extrajo muestra de sangre para estudio en las primeras 24 horas tras la sospecha de infección, que se envió centrifugada y congelada a laboratorio central (Children's Hospital of Philadelphia). El equipo investigador de cada centro registró todas las variables potencialmente interferentes con biomarcadores y asignó al episodio un diagnóstico final entre los 0 y los 14 días, siguiendo los criterios EORTC/MSG publicados en 2012.

Dado que no se alcanzó la estimación de una tasa del 5% de candidiasis invasiva probada/probable; se utilizaron 13 muestras adicionales de pacientes pediátricos sin sospecha de candidiasis a las que se inocularon diversas especies de *Candida*.

En todas las muestras se realizó determinación de antígeno (1→3)β-D-glucano (Fungitell), detección molecular mediante T2 Candida assay (T2 Biosystems), y detección combinada de antígenos y anticuerpos frente a *Candida spp.* utilizando los kits Platelia Candida Antigen Plus Assay y Platelia Candida Antibody Plus Assay (Bio-Rad). La técnica T2 detecta mediante resonancia magnética la presencia de material genético procedente de células (pero no DNA libre) de levaduras de las siguientes especies: *C. albicans/C. tropicalis*, *C. glabrata/C. krusei*, y *C. parapsilosis*, mientras que el (1→3)β-D-glucano es un antígeno considerado cuasi-panfúngico pero que no es específico ni de género ni de especie.

Posteriormente se calculó la sensibilidad (S), especificidad (E), y valores predictivos positivo (VPP) y negativo (VPN) de cada técnica en relación con el diagnóstico final, así como sus razones de probabilidad para un rango de prevalencias hipotéticas de entre el 1 y el 10%. El cultivo convencional de muestra estéril fue considerado el gold-standard diagnóstico.

Se repitieron los análisis de sensibilidad considerando el resultado final en diferentes períodos de tiempo (0-2 días, 0-7 días), excluyendo las especies que no es capaz de detectar el T2 Candida assay¹, así como los factores concomitantes que potencialmente pudieran generar falsos positivos o negativos en las técnicas de detección de antígenos y excluyendo las muestras inoculadas artificialmente. Adicionalmente, se evaluó el rendimiento de las técnicas en combinación, para lo que sólo se consideraron las técnicas cuantitativas con un área bajo la curva ROC superior a 0,65.

2. Resultados

Los resultados más relevantes del artículo son los siguientes:

2.1 Datos epidemiológicos

Durante el período de estudio se incluyeron 500 pacientes (edad mediana 6 años [RIC 2,5-11,8 años]). La patología de base más frecuente fue cáncer (32,5% hematológico, 23,5% sólido), seguido de fallo intestinal (19,3%).

2.2 Datos microbiológicos

Trece pacientes fueron diagnosticados de CI con cultivos positivos (todos candidemia excepto una candidiasis peritoneal). La especie más frecuente fue *C. parapsilosis* (6/13), seguido de *C. tropicalis* (4/13).

2.3 Datos de biomarcadores

En general, el T2 Candida assay mostró los mejores resultados (S, 79,2%; E, 97,1%; VPP, 61,3%; VPN, 98,8%) en relación al diagnóstico a los 14 días, seguida por Platelia Candida Ag Plus (S, 39.1%; E, 96.7%; VPP, 37.5%; VPN 96.9%), Platelia Candida Ab Plus (S, 21.7%; E, 94.9%; VPP, 17.9%; VPN, 96.0%), y Fungitell (S, 9.1%; E, 85.4%; VPP, 3.0%; VPN, 95.0%) (Tabla 4).

Se calculó la probabilidad de CI tras un resultado positivo de T2 Candida assay en diferentes escenarios de prevalencia; oscilando entre el 21% en caso de 1% prevalencia y el 75,2% en caso de 10% de prevalencia. Cabe destacar que la sensibilidad de T2 Candida assay se incrementó hasta el 90% cuando se restringió el análisis de resultados finales a una ventana de 0-2 días. Este subanálisis, sin embargo, no modificó el comportamiento del resto de pruebas.

El ensayo no molecular que ofreció la probabilidad post-test más elevada fue Platelia Candida Ag Plus (10.6% para una prevalencia del 1% y 56.6% en un escenario con una prevalencia del 10%)

La exclusión de factores potencialmente causantes de falsos positivos aumentó la E y disminuyó la S de Fungitell y Platelia Candida Ab. La exclusión de especies causantes de falsos negativos (especies no incluidas en las dianas del ensayo), además, mejoró levemente la sensibilidad de T2 Candida assay.

Respecto a la combinación de biomarcadores, solo T2 Candida assay y Platelia Candida Ag superaron el límite preestablecido de área bajo la curva ROC 0,65; por lo que fueron los únicos considerados en combinación. El rendimiento fue el siguiente: cualquiera de los dos positivos: S, 86,4%; E, 94,7%; VPP, 47,5%; VPN, 99,2%; ambos positivos S, 31,8%; E, 99,8%; VPP, 87,5%; VPN, 96,3%).

3. Conclusiones

- Este es el mayor estudio prospectivo realizado hasta la fecha sobre biomarcadores de candidiasis en población pediátrica. El mejor rendimiento se obtuvo con la detección molecular el T2 Candida assay, con buena S (79,2%) y E (97,1%), seguido por Platelia Candida Ag Plus assay (S, 39.1%; E, 96.7%). Mientras la E de de Platelia Candida Ab Plus y Fungitell fue adecuada, ninguna excedió el umbral mínimo de sensibilidad definido por los autores como del 25%. Por lo tanto, los autores consideran que T2 Candida assay es el único método estudiado con suficiente S y E para ser considerado de forma individual en el diagnóstico de CI en pacientes de riesgo.

- Respecto a la decisión de usar T2 Candida assay solo o en combinación con Platelia Candida Ag Plus assay, los autores consideran que se debe decidir de forma individualizada, en función de la situación del paciente, las implicaciones del diagnóstico en su manejo, y la capacidad de cada centro para procesar los biomarcadores.
- Los autores reconocen como principales limitaciones la baja prevalencia de candidiasis invasora en la cohorte (por la que se tuvieron que añadir especímenes inoculados), la realización de biomarcadores *a posteriori* y con volúmenes inferiores al solicitado por los fabricantes, el uso de una técnica imperfecta como los cultivos convencionales como *gold standard*, y la práctica ausencia de casos de CI diferentes de candidemia.
- Ahondando en el tema del uso del cultivo como *gold-standard* (una limitación habitual en la evaluación de técnicas moleculares), se detectaron 12 resultados positivos para T2 Candida assay con cultivos negativos. Por una parte, se debe tener en cuenta que se considera que la sensibilidad media de los hemocultivos para el diagnóstico de candidiasis invasora está en torno al 50% (en estudios de correlación con necropsias), siendo considerablemente inferior en formas de candidiasis profunda que no cursen con candidemia. Por otra parte, existe la posibilidad de que, dadas las características de los pacientes (disrupción barreras mucosa gastrointestinal por diferentes motivos) se detectase candidemia transitoria no identificada por técnicas de cultivo convencional. Además, 4/12 pacientes recibieron algún antifúngico durante los 7 días anteriores a la extracción de biomarcadores (profilaxis), hecho que podría justificar cultivos negativos con detección de DNA positiva.

Comentario del revisor: qué aporta e implicaciones clínicas y de investigación

- Tal como comentan los autores, se trata del mayor estudio hasta la fecha que evalúa el rendimiento de biomarcadores de CI en niños. A pesar de las limitaciones comentadas, parece claro que, de las estudiadas, T2 Candida assay es la técnica con mayor potencial para diagnosticar CI. Su principal ventaja es el tiempo reducido para el diagnóstico (inferior a 5 horas), su elevado VPN para descartar candidemia y evitar tratamientos antifúngicos innecesarios; y la posibilidad de diagnosticar CI en pacientes que ya reciben fármacos antifúngicos (en tratamiento o profilaxis) que pueda negativizar los cultivos. La otra cara de la moneda es la dificultad para interpretar esta disociación, especialmente si hay baja sospecha de candidiasis, ya que como se comenta, un resultado positivo podría traducir una candidemia transitoria sin significado clínico con el consiguiente riesgo de sobrediagnóstico. Para ello es de capital importancia tener presente que estas técnicas no basadas en cultivo detectan presencia de analitos, pero una señal positiva para el analito de interés no implica necesariamente la existencia de enfermedad. Por ello, tal y como indican los autores, la interpretación de los resultados de las técnicas se debe hacer, necesariamente, considerando la probabilidad pre-test de presencia de enfermedad. A efectos prácticos, esto implica que la solicitud de estas pruebas se debe restringir estrictamente a casos con alta

sospecha de infección invasora y alta probabilidad de que la infección invasora curse con candidemia. Otra limitación es la detección restringida a 5 especies de *Candida* spp., aunque son las más frecuentes en la práctica clínica (y en el presente estudio), en función de la epidemiología local, un resultado negativo no excluiría completamente la posibilidad de candidemia.

- Una importante limitación a remarcar es la práctica ausencia de casos de CI profunda o visceral en el estudio, que impide extrapolar los resultados obtenidos a estos otros escenarios de diagnóstico tradicionalmente difícil. En ellos siguen siendo fundamentales las pruebas de imagen y el abordaje invasivo.

- Pese a la comodidad del formato listo para uso del T2 *Candida* assay, su principal inconveniente es el elevado precio del kit, actualmente superior a 300 euros/determinación. Una alternativa más económica pero con un rendimiento analítico comparable al del T2 es la detección molecular de *Candida* mediante PCR en tiempo real (Avni J Clin Microbiol. 2011; 49(2):665.). Actualmente existen en el mercado kits comerciales ya disponibles con marcaje CE-IVD, pero adolecen de las clásicas limitaciones de las técnicas moleculares: su formato (no se trata de kits listos para uso inmediato con muestra sin procesar, dificultando su empleo a demanda y en horario continuado); la necesidad de equipos e instalaciones apropiados para la realización de técnicas de PCR en tiempo real y la necesidad de personal adecuadamente formado para la realización de éstas técnicas.

- Respecto al mejor rendimiento en ventanas de tiempo de 2 días, parece lógico que, siendo la CI normalmente diagnosticada en este período de tiempo (10/13 casos en el estudio), haya una mejor correlación entre el resultado a día 0 y el diagnóstico a día 2. En el caso en el que el diagnóstico se estableció a día 14, parece al menos discutible la relación de dicho evento con los resultados de biomarcadores a día 0.

- Respecto a los otros biomarcadores, los autores no los consideran lo suficientemente válidos como para incluirlos de forma individual en esquemas de diagnóstico de CI. Sin embargo, en escenarios de baja prevalencia de CI como los de la mayoría de nuestros centros, se podría aprovechar su alto VPN y considerar su uso para descartar CI (y por lo tanto suspender o no iniciar tratamientos antifúngicos); especialmente en centros donde no sea posible utilizar técnicas moleculares. En estos casos, también se debe garantizar una cuidadosa interpretación de los resultados que incluya a microbiólogos e infectólogos pediátricos.

- Para concluir, es bien sabido que el diagnóstico de la CI con métodos convencionales es insuficiente y, por lo tanto, era muy necesario realizar el esfuerzo de llevar a cabo un estudio multicéntrico en población pediátrica de evaluación de diferentes biomarcadores. Dentro de los programas PROA pediátricos, el correcto uso de antifúngicos es fundamental, debido a la potencial gravedad de la CI y a los efectos secundarios y coste de los fármacos antifúngicos. Pese a sus limitaciones, los resultados de este estudio deben tenerse en cuenta a la hora de diseñar estrategias de manejo de CI en pacientes pediátricos.