



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES
IZTACALA

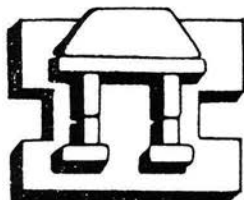
BO 1407/98
g. 2

DETERMINACION DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE
CEPAS DE *Candida albicans* A TRES ANTIMICOTICOS
POR MICRODILUCION EN PLACA.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
B I O L O G A
P R E S E N T A ;
ANABEL MONTOYA GARCIA

DIRECTORA DE TESIS: OFB. GLORIA LUZ PANIAGUA CONTRERAS.



IZTACALA

MARZO, 1998



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS

Quiero manifestar mi más sincero agradecimiento a la Q.F.B. Gloria Luz Paniagua Contreras por su ayuda, asesoría, paciencia y amistad durante la realización de este proyecto de tesis.

Agradezco de manera muy especial al M en C. Sergio Vaca Pacheco por su colaboración en este trabajo y al M en C. Eric Monroy Pérez por sus acertados comentarios.

A los sinodales, que con sus comentarios sugerencias y aportaciones al manuscrito ayudaron a mejorar esta investigación, gracias : Biol. Claudia Tzasna Hernández Delgado y Dr. Diego Julio Arenas Aranda.

A todas aquellas personas que de alguna manera contribuyeron a la realización de este trabajo y al laboratorio Clínico de la Clínica Universitaria de la Salud integral (CUSI), les doy las gracias

DEDICATORIA

A Dios: por sentir que me tiene en un lugar privilegiado

A mi madre, Ma. Guadalupe García Sánchez: Como testimonio del inmenso amor y respeto que siempre le he tenido, para ella mi más sincero agradecimiento por su cariño y apoyo en todos los momentos de mi vida.

A mi Padre, Nemecio Montoya González: Por su apoyo y comprensión

A mis hermanos: Jorge, Paty, Charo y Omar, por ser una parte muy importante de mi vida y por el incondicional apoyo brindado en todo momento.

INDICE

INTRODUCCIÓN	3
Antimicóticos usados contra <i>C. albicans</i>	7
Resistencia a antimicóticos	8
JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS	9
METODOLOGÍA	10
Aislamiento e identificación de las cepas	10
Preparación de los stocks de antimicóticos	11
Crecimiento de las cepas de <i>C. albicans</i> para la prueba de susceptibilidad	12
Determinación de la susceptibilidad de <i>C. albicans</i> a antimicóticos por microdilución en placa	13
RESULTADOS	14
Origen de las cepas	14
Susceptibilidad a miconazol	14
Susceptibilidad a anfotericina B	15
Susceptibilidad a 5-fluorocitosina	15
DISCUSIÓN	25
Origen de las cepas	25
Susceptibilidad a miconazol	25
Susceptibilidad a anfotericina B	26
Susceptibilidad a 5-fluorocitosina	27
Conclusiones	29
Apéndice	31
BIBLIOGRAFÍA	33

INTRODUCCIÓN

Candida albicans, es un hongo microscópico patógeno oportunista del hombre, cuya clasificación es: Reino: *Micetaae*, División: *Deuteromycota*, Subdivisión: *Deuteromycetes*, Subclase formal: *Blastomycetidae*, Orden: *Criptococal*, Familia: *Criptococcaceae*, Género: *Candida*, Especie: *Candida albicans*.

C. albicans es un hongo pleomórfico que puede crecer como levadura gemante, blastoconidia, pseudohifa (células levaduriformes elongadas que parecen cadenas filamentosas de células), y como hifas verdaderas. Una de las características asociada con los cambios morfológicos en el hongo patógeno es que su morfología en el tejido infectado es distinta de la del propágulo que inicia la infección. Esto ha hecho suponer que los cambios morfológicos que ocurren en el estado patológico le confieren al hongo una ventaja en su sobrevivencia (Shepherd, 1991).

En su forma saprofítica habitual, *Candida albicans* crece como levaduras unicelulares, redondas-elipsoidales, Gram positivas, de 2 a 4 μm de diámetro. *C. albicans* crece en medios habituales, como son: Agar Sabouraud, gelosa sangre, infusión de cerebro corazón y extracto de levadura; su crecimiento no es inhibido por micosel, a diferencia de otras especies del mismo género que sí son inhibidas. Las colonias de *C. albicans* crecen en 2-3

días incubando a 25-37°C; su forma es plana, limitada, cremosa, opaca y generalmente lisa, aunque algunas veces se presentan rugosas, de color blanco o blanco amarillento (Bonifaz, 1994).

Las infecciones causadas por *C. albicans* pueden reconocerse por exámenes microscópicos de frotis o por tinción de Gram en muestras obtenidas de lesiones. El hongo puede aislarse a partir de exudados, esputo, escamas, raspado de uñas y centrifugado de orina o de sangre (Arenas, 1995). Una de sus características que se utiliza para identificarlo es la formación del tubo germinativo en suero bovino fetal en aproximadamente 3 hrs a 37°C (Arenas, 1995; Ballows y cols. 1991).

Candida albicans normalmente es un comensal en el hombre, y en personas sanas suele encontrarse en esputo, vías respiratorias altas, piel, tubo digestivo y vagina. Puede pasar al estado patógeno como consecuencia de factores físicos (cambios de pH, sobre todo en vagina y boca), enfermedades o procesos debilitantes (diabetes, tuberculosis, absceso hepático amibiano), inmunodeficiencias (leucemias, SIDA, supresión inmunitaria después de transplantes de órganos), tratamiento prolongado con antibióticos de amplio espectro que desequilibran la flora microbiana normal permitiendo la proliferación de *C. albicans*. Puede causar infecciones leves o severas en piel,

uñas, tracto urinario, boca, esófago, vagina y otros tejidos (Arenas; Ballows, Op. cit) .

Las infecciones exógenas se inician siempre por el ingreso al organismo de grandes cantidades de levaduras; por ejemplo, por contaminación durante procesos quirúrgicos, cateterismos o drogadicción, ya que se inoculan directamente los microorganismos al torrente circulatorio (Bonifaz, 1994). Así, se ha descrito un síndrome septicémico con lesiones oculares, cutáneas y osteoarticulares causado por *C. albicans* en adictos a la heroína (Dupont y Drouhet, 1985).

C. albicans es la causa más frecuente de infecciones fúngicas nosocomiales, siendo responsable del 59.7% de 30,477 micosis estudiadas en Estados Unidos durante 1980-1990 (Beck-Sagué y cols. 1993). Se ha reportado también que las especies de *Candida* constituyen el cuarto organismo más comúnmente aislado de hemocultivos de pacientes hospitalizados, con una mortalidad debida a *C. albicans* de 80-85 % (Bodey, G.P. 1984; Horn y cols. 1985; Klein y Watanakunakorn, 1979; Komshian y cols. 1989). La mayoría de las infecciones nosocomiales por *C. albicans* se deben a un foco endógeno; sin embargo también se han documentado las "infecciones cruzadas" ya que *Candida* puede aislarse de las manos del 15-54% del personal de salud y algunas de estas cepas infectan a pacientes

(Pfaller, M.A., 1995). En un estudio realizado a 133 pacientes cancerosos del Hospital Central Sur de Concentración Nacional de PEMEX, se aislaron 39 cepas de *Candida*; la especie que predominó en el estudio fue *C. albicans* (24 cepas) seguida por *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*. (Ortíz, 1989).

Vázquez y cols. (1993) evaluaron los mecanismos y factores de riesgo asociados con la adquisición de *C. albicans* durante 10 meses en una unidad hospitalaria de trasplante de médula ósea. En el estudio se tomaron muestras de 98 pacientes recién ingresados, aislándose *C. albicans* en 52 de ellos. Catorce pacientes adicionales adquirieron *C. albicans* durante su estancia en el hospital. Las infecciones intrahospitalarias estuvieron asociadas a tratamiento previo con antibióticos y con la duración del período en el hospital (32.5 días).

En un estudio realizado en 1060 pacientes de consulta externa de la clínica No. 58 de IMSS, se tomaron 541 muestras vaginales y 519 orofaríngeas. De las 541 muestras vaginales 125 (23.1%) fueron positivas a *Candida*, siendo las especies más frecuentes *C. albicans* (64%), *C. tropicalis* (16%), *C. stellatoidea* (4.3%) y *C. krusei* (1.6%). De las 519 muestras de

orofarínge, 69 (11.67%) resultaron positivas a *Candida* (*C. tropicalis* 10.14%; *C. stellatoidea* 4.34%; y *C. krusei* 1.6%) (Castillo, R., 1989).

En un estudio de 93 mujeres con vida sexual activa, entre 18 y 40 años de edad, en el ISSSTE de Puebla se aisló *C. albicans* a partir de exudados vaginales de 43 pacientes (46.2%) (Barrientos, M. 1997).

Antimicóticos usados contra *C. albicans*.

Se han desarrollado muchos agentes antifúngicos, pero sólo unos cuantos son activos *in vitro* e *in vivo*. Algunos no pueden usarse en humanos debido a que no difunden a los tejidos, son inactivados por enzimas o son demasiado tóxicos. La selección de drogas anti-*Candida* se basa en su toxicidad selectiva para el hongo, ya que éste, al igual que las células del hospedero, es un eucarionte, y por ello ambos tipos celulares son semejantes en muchos aspectos. La presencia de ergosterol en las membranas de los hongos en lugar de colesterol en las células del hospedero, ha permitido desarrollar las dos principales categorías de antifúngicos: **polienos** (anfotericina B y nistatina, compuestos de acción idéntica que se unen al ergosterol de la membrana y originan la formación de poros, a través de los cuales se liberan componentes intracelulares, lo que conduce a la muerte del

hongo) y **azoles** (inhibidores de la síntesis del ergosterol, como fluconazol, ketoconazol, itraconazol, etc., cuyo nivel disminuído deteriora la membrana del hongo e inhibe su proliferación) (Drouhet y Dupont, 1987; Vanden Bossche, H. 1991). Otro de los antimicóticos comúnmente empleado contra *C. albicans* es la 5-fluorocitosina, antimetabolito que penetra a la célula por acción de la citosina permeasa y es desaminado a 5-fluorouracilo por la citosina desaminasa. La inclusión de 5-fluorouracilo en el RNA interrumpe la síntesis de proteínas, lo que conduce a la muerte del hongo (Drouhet, Op. cit.)

Resistencia a antimicóticos.

La resistencia a los antifúngicos se debe en parte a factores del hospedero y en parte al patógeno. La característica más importante de los pacientes que influye en la resistencia de los hongos a los antimicóticos es la inmunosupresión severa, debida por ejemplo a la infección previa por el virus de la inmunodeficiencia adquirida; así, se han reportado infecciones por *C. albicans* resistentes al tratamiento con fluconazol en enfermos de SIDA (White, A. y Goetz, M.B., 1994). En otro estudio de 100 cepas de *C. albicans* aisladas de la cavidad oral de enfermos de SIDA 50 de ellas fueron resistentes a fluconazol (Barchiesi, F. y cols., 1994), en tanto que de 348 cepas aisladas en Inglaterra 17.5% fueron resistentes a fluconazol, 3.4%

fueron resistentes a flucitosina y 4% lo fueron a anfotericina B (Law, D. y cols., 1994). Es frecuente que las cepas de *C. albicans* resistentes a un antimicótico se aislen de pacientes que han sido tratados repetidamente, o de forma continua, con ese fármaco (Johnson, E.M. y col, 1995); sin embargo, existen reportes de cepas resistentes aisladas de pacientes que nunca han recibido tratamiento con esa droga (Goff, D.A. y cols., 1995).

Justificación y objetivo

Debido al incremento en la frecuencia de cepas de *C. albicans* que muestran resistencia a los antimicóticos, la determinación de la susceptibilidad a estas drogas *in vitro* ha adquirido cada vez mayor importancia, ya que puede constituir un dato adicional útil para que el médico prescriba antimicóticos con base en los datos de susceptibilidad a estos fármacos entre las cepas de *C. albicans* presentes en una comunidad particular. A diferencia del uso más o menos generalizado del antibiograma para las cepas bacterianas, la determinación de la susceptibilidad de los hongos a los antimicóticos es todavía muy poco común. Por lo anterior, el propósito de este trabajo fue determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) de 5-fluorocitosina, miconazol y anfotericina B para 80 cepas de

Candida albicans, aisladas de pacientes que acudieron al Laboratorio de Análisis Clínicos de la CUSI-I, por el método de microdilución en placa.

Metodología.

1. Aislamiento e identificación de las cepas.

Las cepas se aislaron a partir de: Exudados faríngeos, exudados vaginales, urocultivo y cultivo uretral. Las muestras de exudado faríngeo o de orina se sembraron directamente en Agar Sabouraud incubando a 37°C durante 24 hrs. Las muestras de exudado vaginal y de uretra se sembraron primero en Infusión de Cerebro Corazón y, después de incubar durante 24 hrs a 37°C, se resembraron en Agar Sabouraud, incubando nuevamente en las mismas condiciones. Las *C. albicans* se identificaron por morfología colonial (plana, limitada, cremosa, opaca y generalmente lisa, aunque algunas veces se presentan rugosas, de color blanco o blanco amarillento) y microscópica (levaduras unicelulares, redondas-elipsoidales, Gram positivas, de 2 a 4 μm de diámetro), y por la formación de tubo germinativo.

Para observar la formación del tubo germinativo se suspendió la levadura sospechosa en 0.5-1.0 ml de suero sanguíneo, tocando con la punta de una pipeta Pasteur estéril una colonia para emulsionar suavemente las células

adheridas a la pipeta. La suspensión se incubó durante 2 hrs a 37°C. Posteriormente se transfirió una gota de esta suspensión a un portaobjetos para examinarla al microscopio a seco fuerte (40X) después de colocarle un cubreobjetos. Se observó la formación de tubo germinativo de 5-15 µm de largo, característico de *Candida albicans*.

Preparación de los stocks de antimicóticos.

5-Fluorocitosina. Se preparó una solución con 64 µg/ml en agua bidestilada estéril y a partir de ésta, soluciones de 32 µg/ml, 16 µg/ml, 8 µg/ml, 4 µg/ml y 2 µg/ml, por dilución doble seriada con agua bidestilada estéril. Las soluciones se almacenaron a 4°C protegidas de la luz.

Las concentraciones finales de 5-Fluorocitosina (en µg/ml) utilizadas en la determinación de la CMI de este antimicótico para las cepas fueron:

32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5 y 0.25

Miconazol. Se preparó una solución con 512 µg/ml en Dimetil sulfóxido (DMSO). La solución se almacenó a 4°C protegida de la luz.

Las concentraciones finales de miconazol (en µg/ml) utilizadas en la determinación de la CMI de este antimicótico para las cepas fueron:

50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.56 y 0.78.

Anfotericina B. Se preparó una solución con 64 µg/ml en DMSO y a partir de ésta, soluciones de 32 µg/ml, 16 µg/ml, 8 µg/ml, 4 µg/ml y 2 µg/ml, por dilución doble seriada con DMSO. Las soluciones se almacenaron a 4°C protegidas de la luz.

Las concentraciones finales de anfotericina B (en µg/ml) utilizadas en la determinación de la CMI de este antimicótico para las cepas fueron:

1, 0.5, 0.25, 0.125, 0.0625, 0.031 y 0.0156.

2. Crecimiento de las cepas de *C. albicans* para la prueba de susceptibilidad.

Cada una de las cepas de *C. albicans* se creció en Agar Sabouraud durante 24 h a 35°C. Posteriormente se inoculó una asada de una colonia en un tubo con 1 ml de medio RPMI-1640 estéril, se incubó a 35°C durante 24 h en atmósfera de CO₂. En estas condiciones de crecimiento el número de unidades formadoras de colonia por mililitro de cultivo que se obtienen es de $1-2 \times 10^8$, de tal forma que diluyendo el cultivo 10^{-4} se tienen $1-2 \times 10^3$ células en 100 µl.

3. Determinación de la susceptibilidad de *C. albicans* a los antimicóticos por microdilución en placa.

En todos los casos, el volumen final en cada pozo de la placa de microtítulo fue de 200 μ l, el volumen de cultivo de cada cepa fue de 100 μ l (aprox. 1000 ufc totales) y en cada determinación se incluyeron dos controles de crecimiento positivo (cepa + medio RPMI-1640 y cepa + medio RPMI-1640 + DMSO –cuando los antimicóticos se disolvieron en DMSO-) y otro negativo (medio RPMI-1640 sólo, sin cepa).

Una vez hechas las mezclas, la placa se incubó a 35°C por 24 hrs en atmósfera de CO₂. Cada pozo se observó al microscopio con lente de lupa y se anotó el primer pozo en el que no hubo crecimiento, la concentración de antimicótico en ese pozo correspondió a la CMI para esa cepa. Cada determinación se realizó por triplicado.

El apéndice muestra la disposición de los pozos para cada una de las concentraciones de los antimicóticos probados.

RESULTADOS

1. Origen de las cepas.

Se aislaron 80 cepas de *C. albicans* a partir de pacientes que acudieron al Laboratorio de Análisis Clínicos de la CUSI-Iztacala; 67.5% de los pacientes fueron de sexo femenino (54 casos) y 32.5% de sexo masculino (26 casos; Figura 1). La edad promedio de los pacientes fue de 30 años aproximadamente. El grupo etario más abundante correspondió a ≤ 10 años (27.5%); 56.25% de los pacientes fueron adultos de entre 20 y 60 años, distribuidos casi homogéneamente entre las clases: 21-30 años (17.5%), 31-40 años (12.5%), 41-50 años (13.75%) y 51-60 años (12.5%). Las clases menos abundantes fueron 71-80 años (1 paciente, 1.25%), 61-70 años (5 pacientes, 6.25%) y 11-20 años (7 pacientes, 8.75%) (Figura 2).

Las cepas de *C. albicans* se aislaron a partir de exudados faríngeos (68%), exudados vaginales (20%), muestras de orina (11%) y cultivo de uretra (1 cepa) (Figura 3).

2. Susceptibilidad a miconazol.

La susceptibilidad de las cepas de *C. albicans* a este antimicótico se determinó por microdilución en placa, como se describe en Metodología. En la Figura 4 puede observarse que la distribución poblacional de la CMI de miconazol es trimodal, con una subpoblación de cepas sensibles (6.25%) cuyo

(6.25%) cuyo crecimiento es inhibido a concentraciones ≤ 1.562 $\mu\text{g/ml}$; otro grupo de cepas de susceptibilidad intermedia (48.75%) que es inhibido en el intervalo de concentración 3.125-12.5 $\mu\text{g/ml}$ y finalmente, una subpoblación de cepas resistentes (45%) cuyo crecimiento es inhibido a 25-50 $\mu\text{g/ml}$ de miconazol.

Las CMI_{50} y CMI_{90} de miconazol (concentraciones que inhiben el crecimiento del 50% y 90% de las cepas, respectivamente) fueron 10.15 $\mu\text{g/ml}$ y 25 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente (Figura 5).

3. Susceptibilidad a anfotericina B.

La distribución de la CMI de anfotericina B para las cepas de *C. albicans* estudiadas fue unimodal, en el intervalo 0.0156-0.125 $\mu\text{g/ml}$, con 48.75% de las cepas inhibidas a 0.0625 $\mu\text{g/ml}$ de anfotericina B (Figura 6).

Las CMI_{50} y CMI_{90} de anfotericina B fueron 0.0380 $\mu\text{g/ml}$ y 0.0771 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente (Figura 7).

4. Susceptibilidad a 5-fluorocitosina

La distribución de la CMI de 5-fluorocitosina para las cepas de *C. albicans* estudiadas fue unimodal, en el intervalo 0.25-8.0 $\mu\text{g/ml}$, con 65% de las cepas inhibidas a concentraciones ≤ 1.0 $\mu\text{g/ml}$ de 5-fluorocitosina (Figura 8).

Las CMI_{50} Y CMI_{90} de 5-fluorocitosina fueron 0.736 $\mu\text{g/ml}$ y 2.836 $\mu\text{g/ml}$, respectivamente (Figura 9).

FIGURA 1
DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES POR SEXO

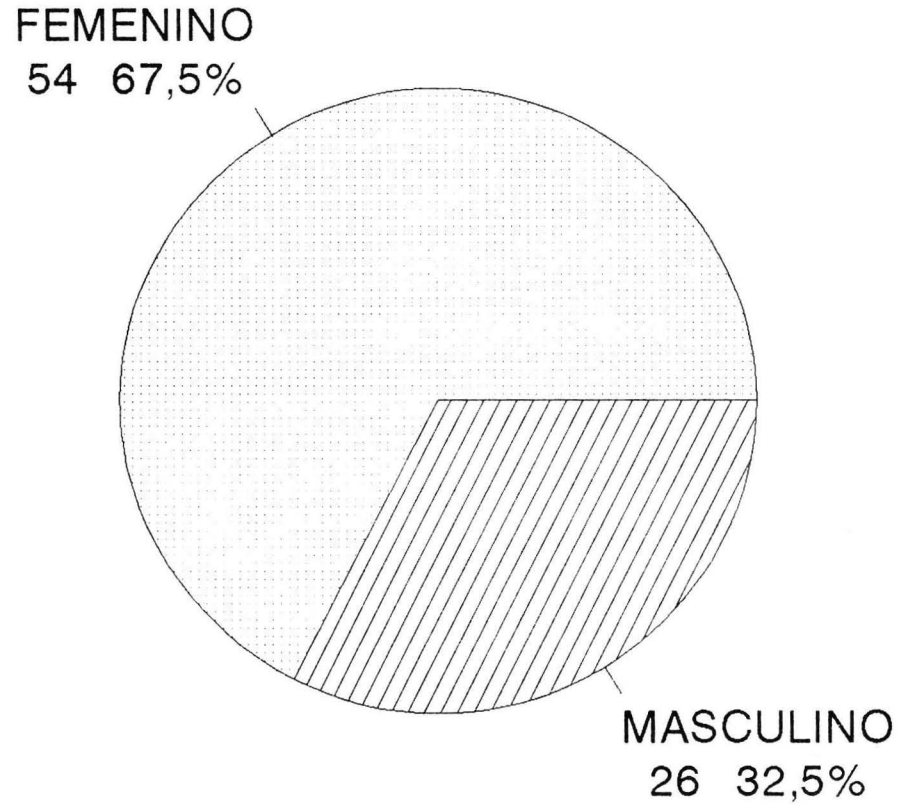


FIGURA 2
EDADES DE LOS PACIENTES INFECTADOS POR
Candida albicans

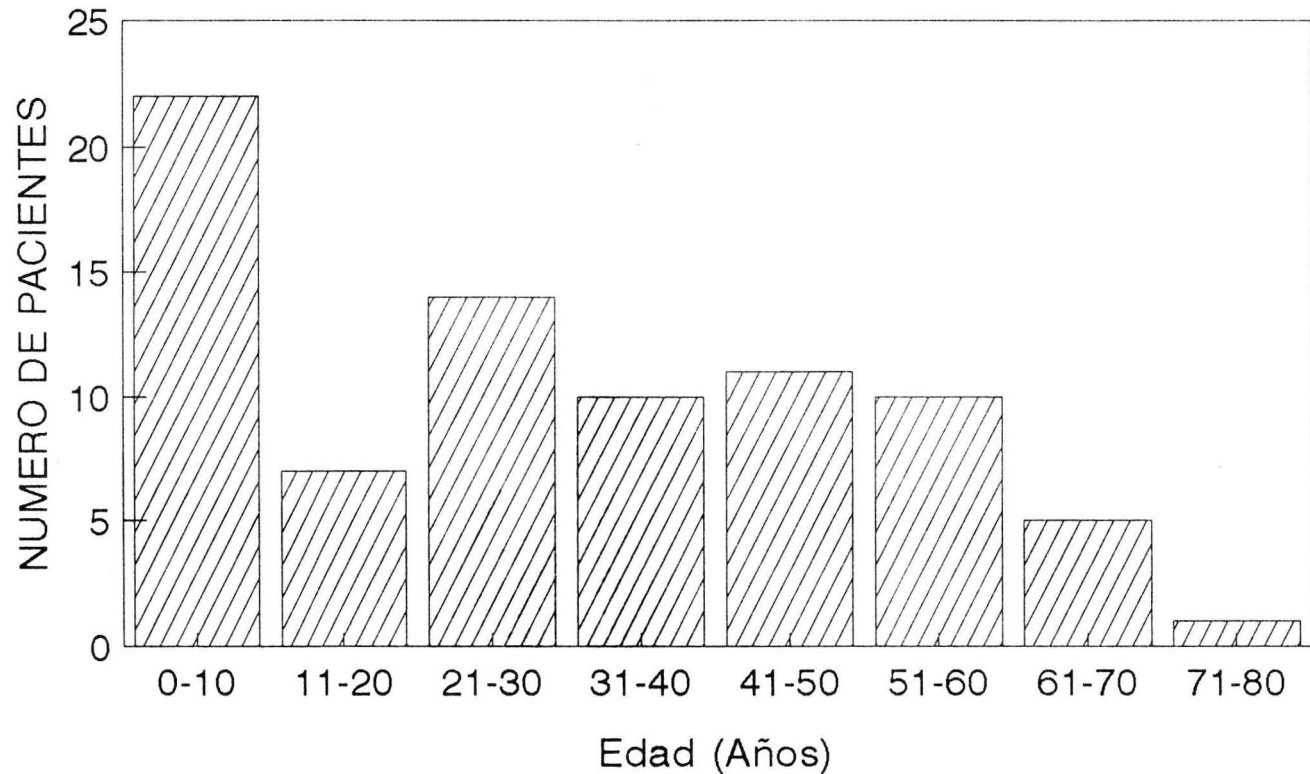


FIGURA 3 ORIGEN DE LAS CEPAS DE *Candida albicans*

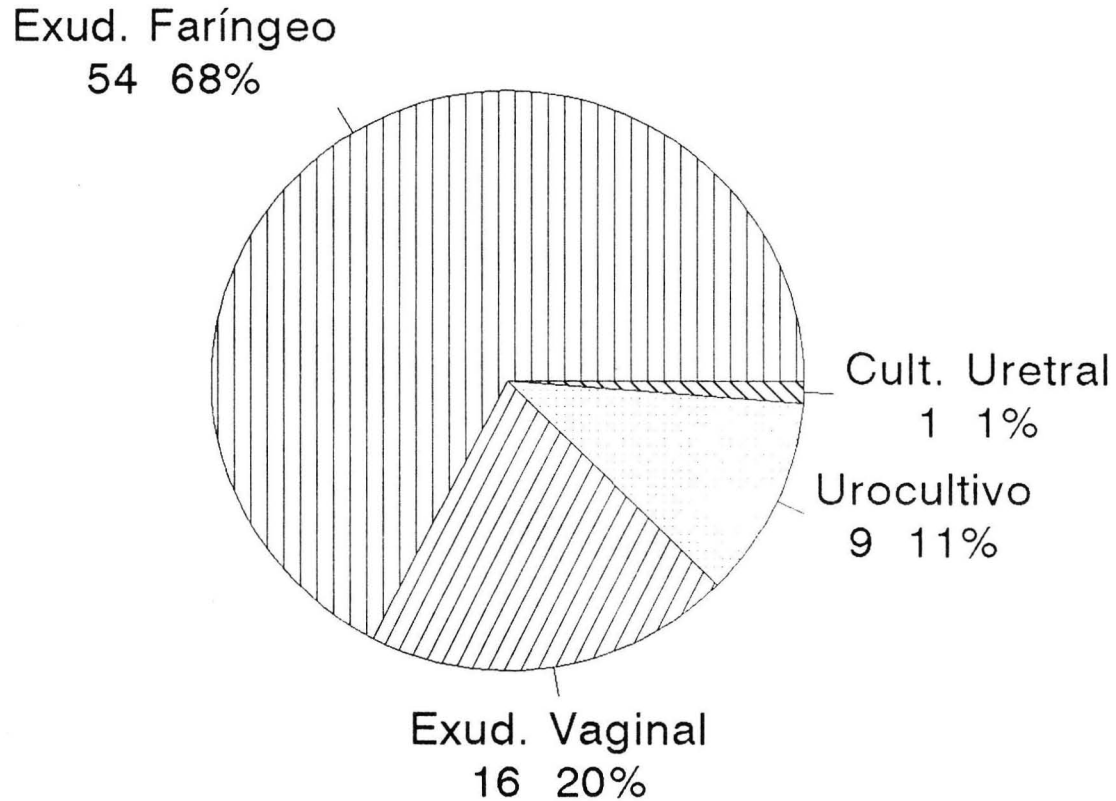


FIGURA 4
DISTRIBUCIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A MICONAZOL
EN LAS CEPAS DE *Candida albicans*

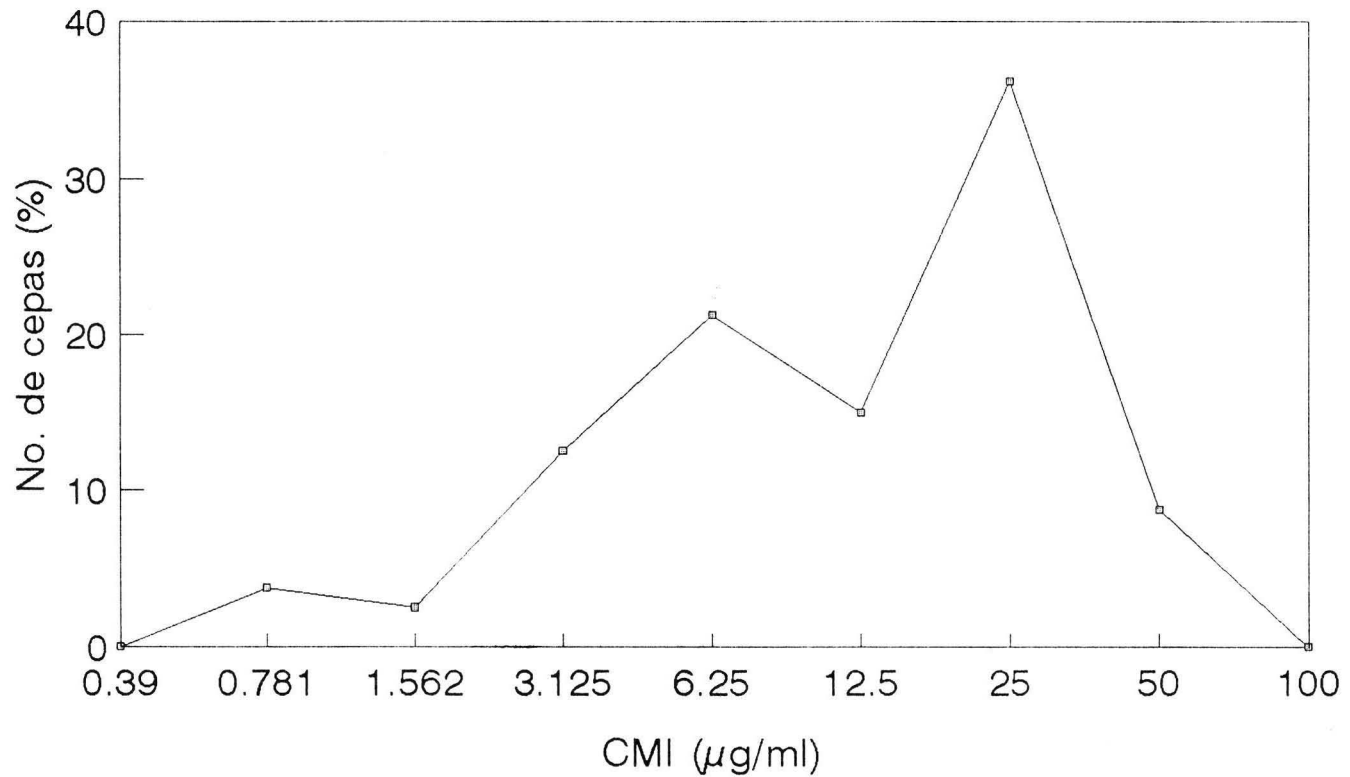


FIGURA 5
CMI₅₀ Y CMI₉₀ DE MICONAZOL PARA
LAS CEPAS DE *Candida albicans*

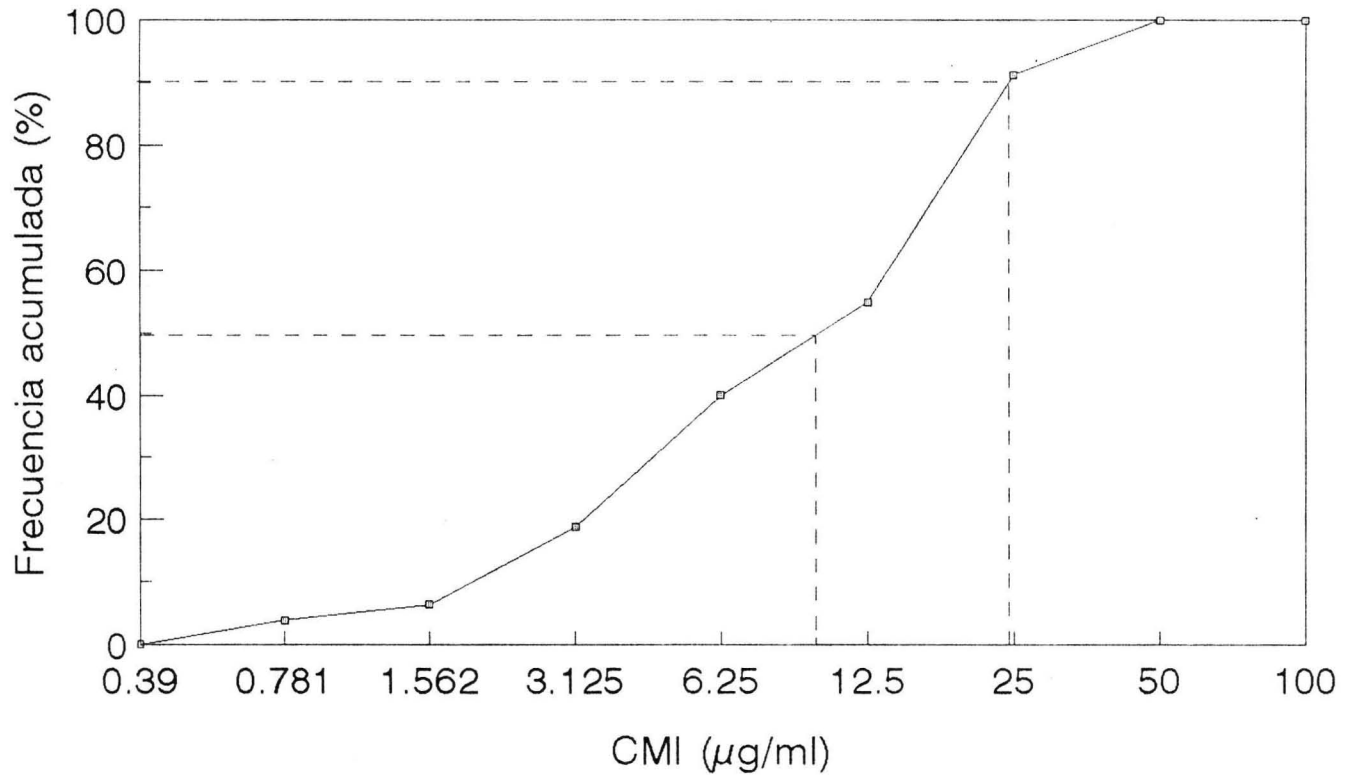


FIGURA 6
DISTRIBUCION DE LA SUSCEPTIBILIDAD A ANFOTERICINA B
EN LAS CEPAS DE *Candida albicans*

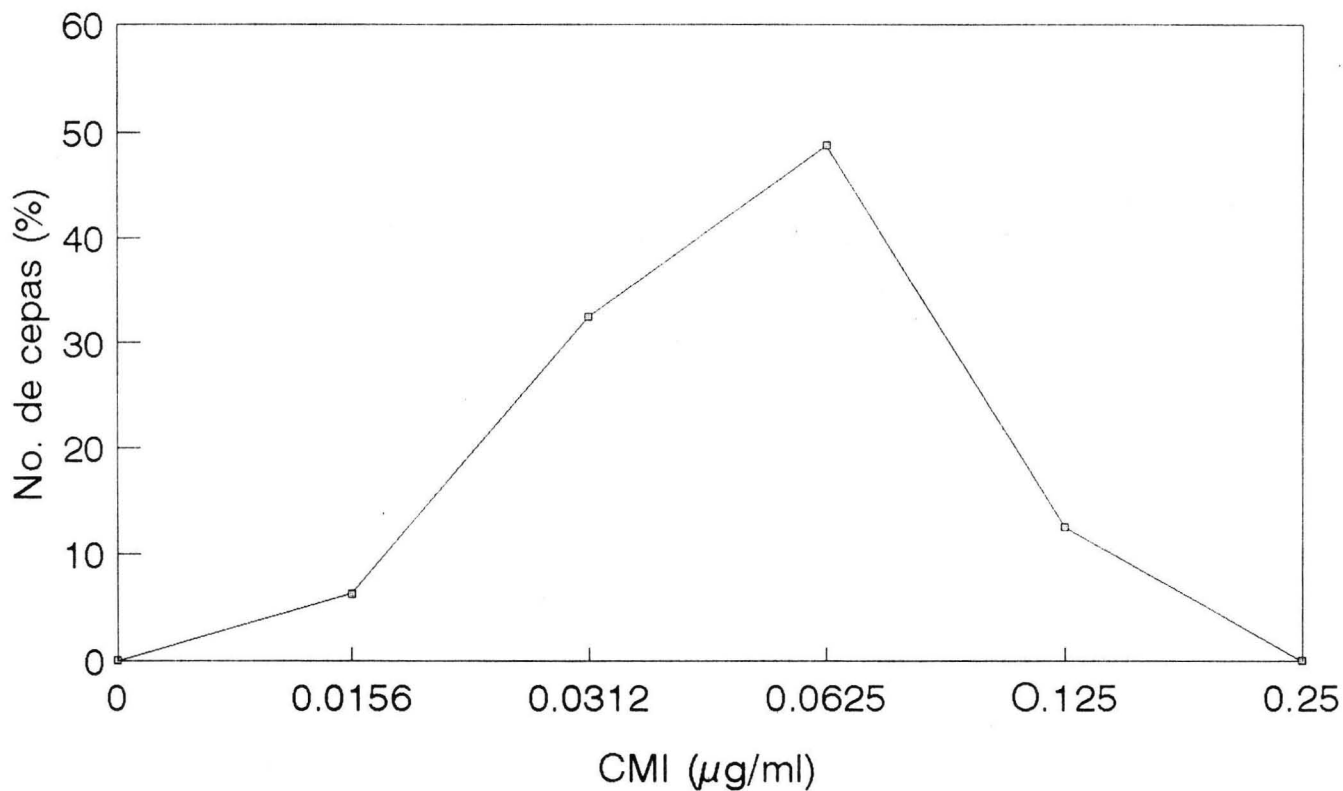


FIGURA 7
CMI₅₀ Y CMI₉₀ DE ANFOTERICINA B
PARA LAS CEPAS DE *Candida albicans*

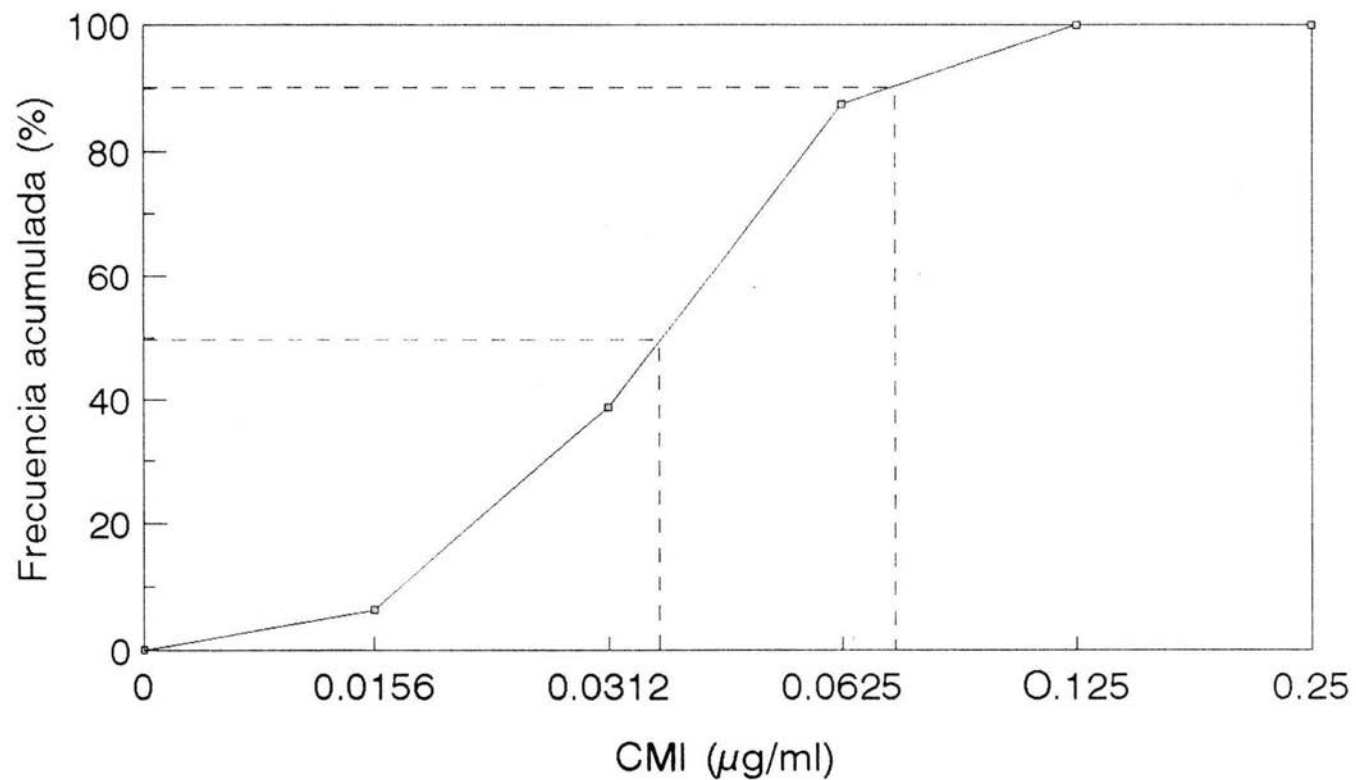


FIGURA 8
DISTRIBUCIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD A 5-FLUOROCITOSINA
EN LAS CEPAS DE *Candida albicans*

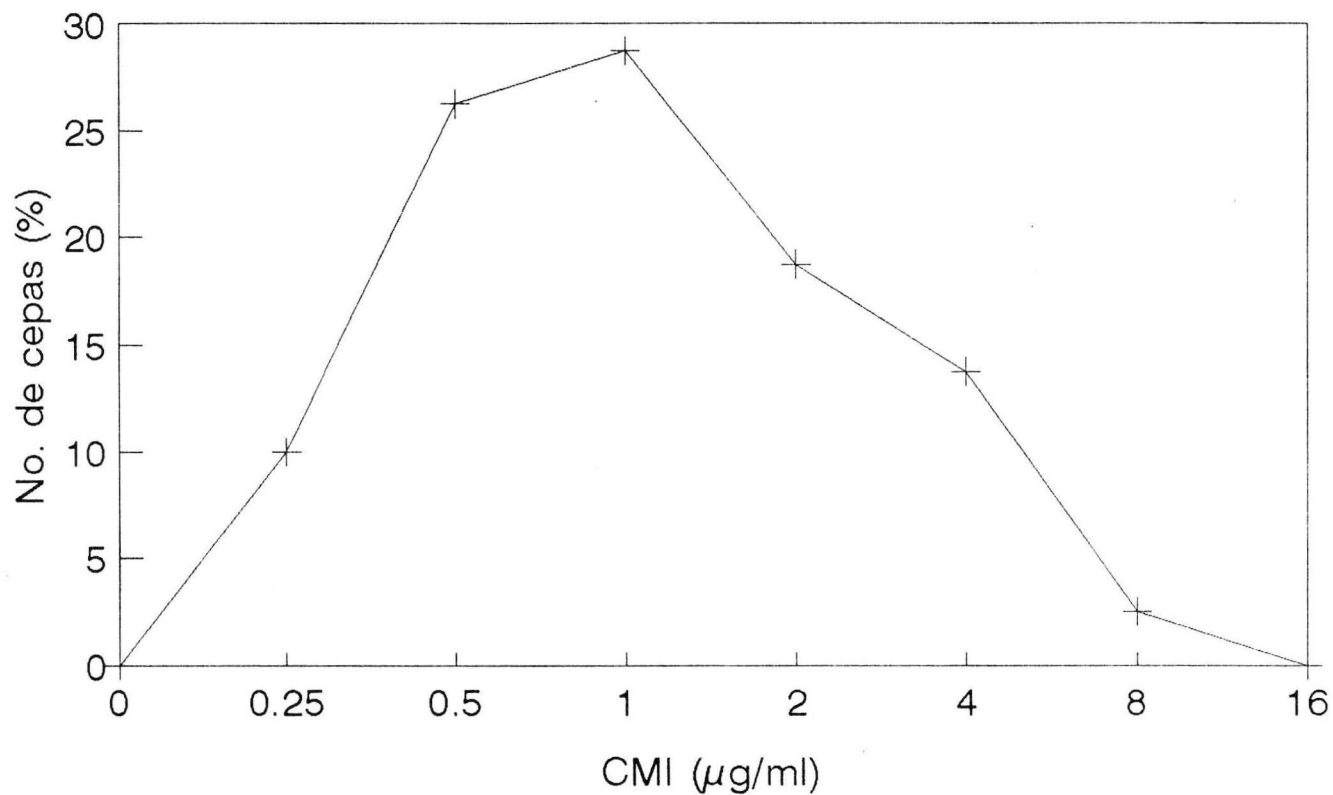
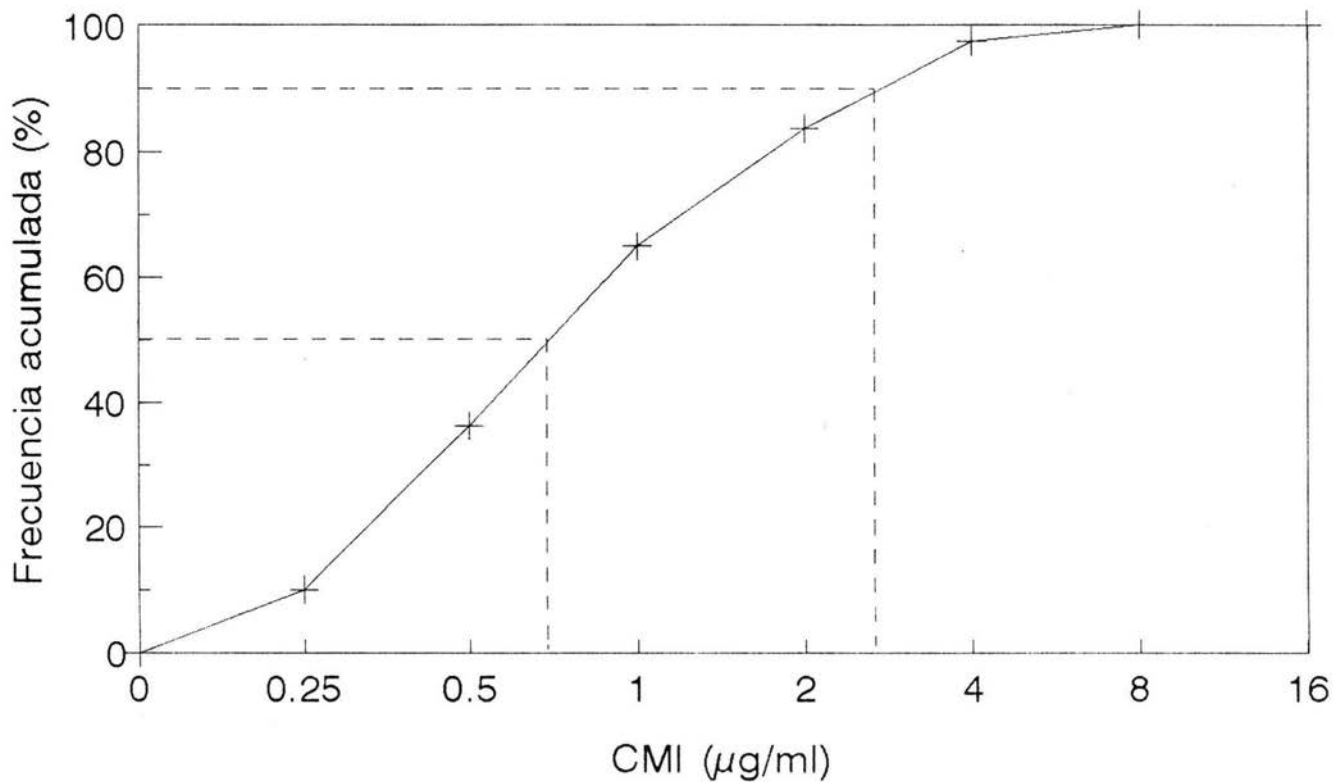


FIGURA 9
CMI₅₀ Y CMI₉₀ DE 5-FLUOROCITOSINA
PARA LAS CEPAS DE *Candida albicans*



DISCUSIÓN.

1. Origen de las cepas.

La mayoría de las cepas de *C. albicans* reportadas en este trabajo fue aislada de pacientes del sexo femenino (68%; Figura 1), principalmente a partir de exudados faríngeos y vaginales (Figura 3), lo que refleja, quizá, que estas zonas de la anatomía femenina son más susceptibles a la proliferación de este microorganismo, que forma parte de la flora normal, como resultado de cambios hormonales y de pH.

2. Susceptibilidad a miconazol.

La población estudiada de cepas de *C. albicans* se distribuyó en tres subpoblaciones, de acuerdo a la CMI de miconazol (Figura 4). Las tres subpoblaciones pueden describirse como sensible (CMI ≤ 1.562 $\mu\text{g/ml}$), intermedia (CMI=3.125-12.5 $\mu\text{g/ml}$) y resistente (CMI=25-50 $\mu\text{g/ml}$), conforme al criterio de distribución poblacional de la CMI de antibióticos contra microorganismos (Kuperztoch-Portnoy, 1981). Puesto que usualmente el miconazol se administra tópicamente, en forma de crema u óvulos, para el tratamiento de infecciones cutáneas o de mucosas y muy rara vez por vía intravenosa, debido a su toxicidad (Rodríguez, R., 1984), en este caso no es aplicable la comparación de la sensibilidad o resistencia de las cepas de *C. albicans* con niveles séricos alcanzados por este antimicótico. A pesar, o

quizá debido a ello, de que este antimicótico es uno de los más utilizados contra las infecciones cutáneas o de mucosas por *C. albicans*, su efectividad es poca, al menos frente a la población de cepas estudiada, ya que 45% de éstas fueron resistentes y 48.75% mostraron una sensibilidad intermedia (Figura 4), necesiéndose altas concentraciones (25 µg/ml) para inhibir el crecimiento del 90% de las cepas (Figura 5). Este resultado ilustra la necesidad de determinar la CMI de miconazol para cada cepa que se aísle de un proceso infeccioso, toda vez que no es posible conocer *a priori* su sensibilidad o resistencia a este antimicótico.

3. Susceptibilidad a anfotericina B.

Dado que la distribución de la CMI para anfotericina B fue unimodal (Figura 6), no puede aplicarse, en este caso, el criterio poblacional en cuanto a la resistencia o sensibilidad de las cepas, ya que no se distinguen subpoblaciones en la muestra estudiada. Por ello, un criterio útil para decidir sobre la resistencia o sensibilidad de las cepas consiste en utilizar los niveles séricos alcanzados por este antimicótico cuando se administra por vía intravenosa en el tratamiento de infecciones sistémicas producidas por *C. albicans*. Así, la administración intravenosa inicial de 1-5 mg, seguida por un incremento gradual de la dosis diaria a 0.4-0.6 mg/kg, origina valores sanguíneos máximos de aproximadamente 0.5-2 µg/ml (Rodríguez, R. 1984).

Tomando en cuenta este criterio, todas las cepas de *C. albicans* estudiadas en este trabajo fueron sensibles a anfotericina B, puesto que su crecimiento fue inhibido *in vitro* a concentraciones ≤ 0.125 $\mu\text{g/ml}$ (Figuras 6 y 7). Estos resultados demuestran que la anfotericina B es uno de los antimicóticos de elección para el tratamiento de las infecciones producidas por *C. albicans* y que, al menos en la población de cepas estudiada, aún no se han seleccionado cepas resistentes.

4. Susceptibilidad a 5-fluorocitosina.

La distribución de la CMI de 5-fluorocitosina fue unimodal para la población de cepas de *C. albicans* estudiada (Figura 8), requiriéndose 2.83 $\mu\text{g/ml}$ para inhibir al 90% de las cepas (Figura 8). La CMI más baja correspondió a 0.25 $\mu\text{g/ml}$, concentración 2.5 veces mayor a la alcanzada en suero cuando este antimicótico se administra por vía oral (Rodríguez, R., 1984), razón por la cual consideramos a todas las cepas estudiadas como resistentes a 5-fluorocitosina. El que todas las cepas de *C. albicans* reportadas en este trabajo fueron resistentes a 5-fluorocitosina es congruente con el hecho de que, a pesar de que esta droga sintética es mejor tolerada que la anfotericina B y es eficaz contra las infecciones por *C. albicans*, no se recomienda su empleo como medicamento único porque la resistencia micótica usualmente aparece durante el tratamiento (Rodríguez, R., 1984).

Los datos reportados en este trabajo indican claramente la necesidad de incorporar la determinación de la CMI a las cepas de *C. albicans* como una prueba rutinaria en los laboratorios de análisis clínicos, con el propósito de orientar el tratamiento antimicótico.

Conclusiones.

1. La mayoría de las cepas de *C. albicans* estudiada en este trabajo se aisló de pacientes del sexo femenino (68%), principalmente a partir de exudados faríngeos y vaginales.
2. De acuerdo a la susceptibilidad a miconazol, la población de cepas se distribuyó en 3 subpoblaciones: Sensible (6.25%, CMI \leq 1.562 $\mu\text{g/ml}$), intermedia (48.75%, CMI=3.125-12.5 $\mu\text{g/ml}$) y resistente (45%, CMI=25-50 $\mu\text{g/ml}$). Estos resultados demuestran la baja efectividad del miconazol frente a la población de cepas estudiada, conclusión que se refuerza por el hecho de que la CMI₉₀ de este antimicótico fué 25 $\mu\text{g/ml}$.
3. Todas las cepas de *C. albicans* estudiadas en este trabajo fueron sensibles a anfotericina B (CMI \leq 0.125 $\mu\text{g/ml}$), toda vez que este antimicótico alcanza valores séricos 4-16 veces mayores que ésta CMI cuando se administra por vía intravenosa.
4. Todas las cepas de *C. albicans* estudiadas en este trabajo fueron resistentes a 5-fluorocitosina, puesto que la CMI₉₀ de este antimicótico fue 2.83 $\mu\text{g/ml}$, con el valor más bajo de CMI=0.25 $\mu\text{g/ml}$, concentración 2.5 veces mayor a la alcanzada en suero cuando esta droga se administra por vía oral.

5. Los resultados obtenidos en este trabajo ponen de **manifiesto** que es necesario incorporar la determinación de la CMI de los antimicóticos para las cepas de *C. albicans* como una prueba rutinaria en los laboratorios de análisis clínicos, con el propósito de orientar el tratamiento antimicótico.

Apéndice.

Disposición de los pozos para cada una de las concentraciones de los antimicóticos probados.

5-Fluorocitosina. El intervalo de concentración de esta droga que empleamos: fue 0.25 a 32 $\mu\text{g/ml}$. La siguiente tabla muestra la disposición de los pozos para cada concentración.

CONCENTRACIÓN FINAL EN LOS POZOS ($\mu\text{g/ml}$)										
Stock	32	16	8	4	2	1	0.5	0.25	0	Medio
64 $\mu\text{g/ml}$	100 μl	50 μl	25 μl	---	---	---	---	---	---	---
32 $\mu\text{g/ml}$	---	---	---	25 μl	---	---	---	---	---	---
16 $\mu\text{g/ml}$	---	---	---	---	25 μl	---	---	---	---	---
8 $\mu\text{g/ml}$	---	---	---	---	---	25 μl	---	---	---	---
4 $\mu\text{g/ml}$	---	---	---	---	---	---	25 μl	---	---	---
2 $\mu\text{g/ml}$	---	---	---	---	---	---	---	25 μl	---	---
RPMI1640	---	50 μl	75 μl	75 μl	75 μl	75 μl	75 μl	75 μl	100 μl	200 μl
CEPA	100 μl	100 μl	100 μl	100 μl	100 μl	100 μl	100 μl	100 μl	100 μl	---

Miconazol. El intervalo de concentración de esta droga que utilizamos fue: 0.78 a 50 $\mu\text{g/ml}$. La siguiente tabla muestra la disposición de los pozos para cada concentración.

CONCENTRACIÓN FINAL EN CADA POZO (µg/ml)										
	50	25	12.5	6.25	3.125	1.56	0.78	0	0	Medio
Stock*	19.53 µl	9.76 µl	4.88 µl	2.44 µl	1.22 µl	0.61 µl	0.3 µl	---	---	---
RPMI	80.47 µl	90.24 µl	95.12 µl	97.56 µl	98.78 µl	99.39 µl	99.7 µl	100 µl	80.47 µl	200
Cepa	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	---
DMSO	---	---	---	---	---	---	---	---	19.53 µl	---

*512 µg/ml

Anfotericina B. El intervalo de concentración de este antifúngico que empleamos fue: 0.0156 a 1 µg/ml. La siguiente tabla muestra la disposición de los pozos para cada concentración.

CONCENTRACIÓN FINAL EN CADA POZO (µg/ml)										
Stock	1	0.5	0.25	0.125	0.0625	0.031	0.0156	0	0	Medio
64 µg/ml	3.125 µl	1.562 µl		---	---	---	---	---	---	---
32 µg/ml	---	---	1.562 µl		---	---	---	---	---	---
16 µg/ml	---	---	---	1.562 µl		---	---	---	---	---
8 µg/ml	---	---	---	---	1.562 µl	---	---	---	---	---
4 µg/ml	---	---	---	---	---	1.562 µl	---	---	---	---
2 µg/ml	---	---	---	---	---	---	1.562 µl	---	---	---
RPMI*	96.875	98.438	98.438	98.438	98.438	98.438	98.438	100 µl	96.875	200 ml
CEPA	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	100 µl	---
DMSO	---	---	---	---	---	---	---	---	3.125 µl	

*µl

BIBLIOGRAFIA

1. Arenas, R. 1995. *Micología Médica Ilustrada*. Ed. Interamericana McGraw-Hill, México.
2. Ballows, A., Hauster, W.J., Hermann, K.L., Isenberg, H.D. and Shadomy, H.J. 1991. *Manual of Clinical Microbiology Fifth Ed.* American Society for Microbiology, Washington, D.C.
3. Barchiesi, F., Colombo, A.L., McGough, D.A., Fothergill, A.W. and Rinaldi, M.G. 1994. In vitro activity of a new antifungal triazole, D0870, against *Candida albicans* isolates from oral cavities of patients infected with human immunodeficiency virus. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 38:2553-2556.
4. Barrientos Rivera, María Patricia 1997. *Frecuencia de Vulvovaginitis en mujeres con vida sexual activa*, UMF. ISSSTE, Puebla. Tesis Medicina, UNAM.
5. Beck-Sagué C. M., Jarvis W. R. and the National Nosocomial Infections Surveillance System. 1993. Secular Trends in the Epidemiology of Nosocomial Fungal Infections in the United States, 1980-1990. *J. Infect. Dis.* 167:1247-1251.
6. Bodey, G.P. 1984. Candidiasis in cancer patients. *Am. J. Med.* 77(suppl 4D):13-29.

7. Bonifaz, Alejandro. 1994. *Micología Médica Básica*. Editorial Menéndez. México
8. Castillo Romero, José Miguel. 1989. Estudio Epidemiológico de las diferentes especies de *Candida* en infecciones faríngeas y vaginales con aplicación de una microtécnica en el laboratorio útil en el Diagnostico de Candidiosis. Tesis Biología. UNAM.
9. Drouhet, E. and Dupont, B. 1987. Evolution of antifungal agents: Past, Present and Future. *Rev. Infect. Dis.* 9(Supp. 1):s4-s14
10. Dupont, B. and Drouhet, E. 1985. Cutaneous, ocular and osteoarticular candidiasis in heroin addicts: new clinical and therapeutic aspects in 38 patients. *J. Infect. Dis.* 152:577-591.
11. Goff, D.A., Koletar, S.L., Buesching, W.J., Barnishan, J. and Fass, R.J. 1995. Isolation of fluconazole-resistant *Candida albicans* from human immunodeficiency virus-negative patients never treated with azoles. *Clin. Infect. Dis.* 20:77-83.
12. Horn R., Wong, B., Kiehn, T.E. and Armstrong D. 1985. Fungemia in a cancer hospital: changing frequency, earlier onset, and results of therapy. *Rev. Infect. Dis.* 7:646-655.
13. Johnson, E.M., Warnock, D.W., Luker, J., Porter, S.R. and Scully, C. 1995. Emergence of azole drug resistance in *Candida* species from HIV-

- infected patients receiving prolonged fluconazole therapy for oral candidosis. *J. Antimicrob. Chemother.* 35:103-114.
14. Klein, J.J. and Watanakunakorn C. 1979. Hospital acquired fungemia. Its natural course and clinical significance. *Am. J. Med.* 67:51-58.
 15. Komshian, S.V., Uwaydah, A.K., Sobel, J.D. and Crane L.R. 1989. Fungemia caused by *Candida* species and *Torulopsis glabrata* in the hospitalized patient: frequency, characteristics, and evaluation of factors influencing outcome. *Rev. Infect. Dis.* 3:379-390.
 16. Kuperstoch-Portnoy, Y.M. (1981). Antibiotic resistance of Gram negative bacteria in México: Relationship to drug consumption. En: Levy, S.B., R.C. Clowes and E.L. Koenig (eds) *Molecular Biology, Pathogenicity, and Ecology of Bacterial Plasmids*, pp. 529-537. Plenum Press. New York.
 17. Law, D., Moore, C.B., Wardle, H.M., Ganguli, L.A., Keaney, M.G. and Denning, D.W. 1994. High prevalence of antifungal resistance in *Candida* spp. from patients with AIDS. *J. Antimicrob. Chemother.* 34:659-668.
 18. Ortíz Gamiño, A. 1989. Estudio epidemiológico de las diferentes especies de levaduras del género *Candida* en cavidad oral, piel y vías urinarias de pacientes neoplásicos. Tesis de Licenciatura, Biología, UNAM.
 19. Pfaller, M.A. 1995. Epidemiology of candidiasis. *J. Hosp. Infect.* 30 Suppl:329-338.

20. Rodríguez, R. (1984). *Vademecum académico de medicamentos*.
Universidad Nacional Autónoma de México, pp. 77-79.
21. Shepherd, M.G. Morphogenesis in *Candida albicans*. En: Prasad, R. (ed),
Candida albicans: Cellular and Molecular Biology, Springer-Verlag, pp.
5-19.
22. Vanden Bossche, H. 1991. Ergosterol Biosynthesis inhibitors. En: Prasad,
R. (ed). *Candida albicans: Cellular and molecular Biology*. Springer-
Verlag. Alemania. pp. 239-257.
23. White, A. and Goetz, M.B. 1994. Azole-resistant *Candida albicans*:
report of two cases of resistance to fluconazole and review. *Clin. Infect.*
Dis. 19:687-692.