



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN,
CAMPO 1

DETERMINACION DE LA CONCENTRACION
MINIMA INHIBITORIA DE LOS DERIVADOS DEL
ACIDO CARBAMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

DIANA GENOVEVA ORTEGA ARRIJOA

ASESORES: DR. ANDRES ROMERO ROJAS
DR. ENRIQUE R. ANGELES ANGUIANO
M. AMPARO LONDOÑO OROZCO

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

2005

m 344934



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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



DEPARTAMENTO DE
EXAMENES PROFESIONALES

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLAN
P R E S E N T E

ATN: Q. Ma. del Carmen García Mijares
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES Cuautitlán

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS:

Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de
los Derivados del Acido Carbámico en *Candida albicans* y
Cryptococcus neoformans.

que presenta la pasante: Diana Genoveva Ortega Arrijoja
con número de cuenta: 9114726-2 para obtener el título de :
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Méx. a 4 de Diciembre de 2004

PRESIDENTE	<u>Dra. Susana E. Mendoza Elvira</u>	
VOCAL	<u>Dr. Andrés Romero Rojas</u>	
SECRETARIO	<u>MC. Brigida del Carmen Camacho Enriquez</u>	
PRIMER SUPLENTE	<u>MFC. Cecilia Hernández Barba</u>	
SEGUNDO SUPLENTE	<u>QFB. Olimpia Roxana Ponce Crippa</u>	

AGRADEMICIENTOS

Deseo dar las gracias

A DIOS:

Por la vida, por mi familia, por mis amigos y profesores; por cuidarme y colmar mi vida de bendiciones, por tener tanto que agradecer y tan poquito que pedir.

A la UNAM:

Por la invaluable oportunidad de estudiar, por su calidad académica y por todas las personas maravillosas que forman parte de ella y tuve la ocasión de conocer.

A

DISTRIBUCIONES LEMERC

QFB León M. Alcocer y QFB Ma. Mercedes Vázquez,

LABORATORIOS LIOMONT

**QFB Tita Santamarina Sandoval y QFB Guadalupe Rebollar,
INDRE**

QBP Cudberto Contreras y QFB Ricardo Mendieta:

Por facilitar los principios activos, cepas, medios de cultivo y apoyo técnico para la realización de la presente investigación.

**HAY PERSONAS QUE ACOMPAÑAN ALGUNOS PASOS DE MI
VIDA Y LUEGO SE ALEJAN,
HAY PERSONAS CON QUIENES COMPARTO UN LARGO
TRECHO DEL CAMINO,
HAY PERSONAS CUYO CAMINO SE CRUZARÁ VARIAS
VECES CON EL MIO,
Y HAY PERSONAS QUE SIN IMPORTAR SI EL TIEMPO
JUNTOS FUE CUANTIOSO O EXIGUO, DEJARÁN UNA
HUELLA INDELEBLE EN MI CORAZÓN.**

A Mi Familia:

A mi esposo Javier:

Por amarme tanto y ser parte trascendental de mi vida, por apoyarme para seguir estudiando, por tu paciencia y tu confianza, por estar a mi lado en la bonanza y en la adversidad. ¡Te amo flaquito!

A mi hijo Gerardo y mi hermano Uriel:

Por ser mi mayor motivación para continuar superándome, por echarme porras, por llenar mi vida con su alegría y amor.

A mis papás y suegros Susana, Román, Andrea y José⁺:

Por cuidar de mí, por alentarme, por jalarme las orejas, por brindarme su amor y su invaluable ayuda.

A mis hermanos y cuñados Jorge, Arturo, Elsa, Fernando, Ana y Ramón:

Por su apoyo y cariño.

A mis abuelitos Manuel⁺, Amparo, Román y Teresa:

Por su amor y apoyo, por ser un ejemplo de superación, valor, honestidad, perseverancia y pasión por la vida.

A mis abuelitas Susana y Flaviana:

Por su cariño y por echarme porras para continuar adelante.

A mi tía Araceli:

Por su cariño y por brindarme asesoría médica para la realización de ésta tesis.

Los amo.

Recuerdos...

*Un recuerdo anuncia la llegada de alguien,
alguien que posiblemente nos tendió la mano,*

alguien que tal vez nos hizo sentir mal,

alguien que posiblemente nos hizo reír,

alguien que posiblemente nos hizo llorar.

Tal vez sea un recuerdo triste,

tal vez el recuerdo sea alegre,

o quizás sea un recuerdo confuso.

*Lo importante es que, no importando cual
haya sido ese recuerdo,*

*tenemos la dicha de poder recordar a esa
persona.*

*que hoy día ha formado parte de nuestra vida,
de nuestro caminar, de nuestro vivir.*

*Porque gracias a que nos hicieron llorar,
aprendimos que somos sensibles y vulnerables.*

*Porque gracias a que nos hicieron reír,
aprendimos que podemos ser felices.*

*Pero lo más importante es,
que podemos compartir cada uno de estos
sentimientos,*

*con amigos, con familiares y porque no
con nuestros enemigos, con las personas que
nos han lastimado;*

porque gracias a ellos,

nos hemos esforzado para ser mejores,

nos hemos esforzado para cumplir metas,

nos hemos esforzado para no ser iguales.

*Hoy recuerdo que gracias a ti, estoy
escribiendo que te quiero.*

*Hoy recuerdo que gracias a ti, he sabido
seguir adelante.*

Hoy recuerdo que gracias a ti, puedo ser feliz.

*Recuerda, nunca es malo recordar, siempre
y cuando quieras encontrar la verdad.*

Oiento

(Juan P. Mejía S.)

A mis Amigos:

Enrique S.⁺:

Por tu amor, tu ejemplo, tus consejos, tu entereza y valor para resistir de pie aún a las situaciones más adversas, pero sobre todo, por el recuerdo de una bellísima amistad que siempre atesoraré.

Veronica^{QFB}₂₄, Lerina^{QFB}₂₅, Isai^{QFB}₂₂, Lizbeth^{IA}₂₂, Emmiret^{IA}₂₄, Bety^{QFB}₂₂, Dulce^{QFB}₂₅, Armando^{QFB}₂₉, Jorge^{QFB}₂₃, Gerardo^{QFB}₂₃, Salvador^{IA}₂₂, Caty chica^{QFB}₂₄, Abigail^{QFB}₂₄, Cosme^{QFB}₂₃, Juan^{QFB}₂₃, Omar^{QFB}₂₂, Pedrito^{QFB}₂₂, Anahí^{QFB}₂₄, Laura^{QFB}₂₃, Cristóbal G.^{QFB}₂₄, Raúl P.^{QFB}₂₄, Fernando^{QFB}₂₂:

Por su valiosa y sincera amistad, por su franqueza al indicarme mis aciertos y mis errores, por no dejarme sola y brindarme apoyo incondicional en los momentos difíciles y en tantos proyectos locos, por su cariño, por compartir con migo sus sueños y sus temores; y desde luego, por el increíble arco iris de memorias indelebles que grabaron en mi corazón. Los amo.

Marlene^{QFB}₂₅, Blanca^{QFB}₂₃, Lucía^{QFB}₂₄, Carina^{QFB}₂₄, Chío^{QFB}₂₃, Pedrote^{QFB}₂₂, Tomás^{QFB}₂₄, Arminda^{QFB}₂₄, Alma^{QFB}₂₄, Víctor^{QFB}₂₄, Fernando^{QFB}₂₄, José^{QFB}₂₄, Caty grande^{QFB}₂₄, Estelita^{QFB}₂₄, Edith^{QFB}₂₄, Vianey^{QFB}₂₄, Israel^{QFB}₂₄, Toño^{QFB}₂₄, Alejandro^{QFB}₂₄, Iguala^{QFB}₂₄, Elisabeth^{IA}₂₅, Marcos^{QFB}₂₂, Eras^{QFB}₂₂, Víctor (gorgori)^{QFB}₂₂, Guillermo^{QFB}₂₄, Gabriel^{QFB}₂₉, Yesica^{QFB}₂₉, Pancho^{QFB}₂₁, Yeni^{QFB}₂₉, Joaquín^{QFB}₂₄, Jeimy^{QFB}₂₄, Alejandra^{QFB}₂₄, Carlos I.^{QFB}₂₂, José^{QFB}₂₈, Israel^{QFB}₂₃, Romeo^{IA}, Alicia^{QFB}₂₃, Eglael^{QFB}₂₃ y Carlos^{QFB}:

Por su amistad y cariño, por tantos gratos recuerdos.

Ernestina^{QFB}, Fernando^{MVZ}, Erick^{MVZ}, Gonzalo^{QFB}₂₄, Roberto^{QFB}₂₃ e Hilda^{QFB}₂₃:

Por las memorias compartidas.

Alejandro^{QFB}₂₂, Guillermo^{QFB}₂₃, Alberto^{QFB}₂₃, Víctor Guani^{QFB}₂₂ y Mario^{QFB}₂₂:

Por todo lo compartido, por su apoyo en Orgánica 3 y Micro 2, por las buenas y malas reminiscencias que han llenado de bemoles este capítulo de mi vida.

A todos mis Profesores:

Enrique Ángeles, Andrés Romero, Alberto Murcia, José Garduño, Gilberto Amaya, Juan José Mendoza, Juan Manuel Aceves y Elizabeth Toris:

Por jalarme las orejas cuando la regaba y felicitar me cuando acertaba, por su paciencia, por su apoyo en los momentos difíciles, por todo lo que me enseñaron, por las memorias compartidas y sobre todo por su amistad.

Susana Mendoza, Brígida Camacho, Cecilia Hernández, Olimpia Ponce, Ma. Eugenia Posada, José Luis Lara, René Miranda, Gpe. Sevilla, Gpe. Franco, Gpe. Rebollar, Enrique Amador, Paty Zúñiga, Lety Zúñiga, Bernardo F. Torres, Ricardo Santiago, Francisco López, Rodolfo Cruz, Jesus Madrigal, Jorge López, Natividad Venegas, Soledad Carreto, Juan José Lara, Salvador Sambrano, Fernando Flores, Juan José Díaz, Rafael Villalobos, Rodolfo Cruz, Raquel López, Gpe. Koisumi, Lidia Rangel, Maricela Noe, Marco Antonio Muñoz, Gerardo Cruz, Francisco López M., Ma. Esther Revuelta, Ma. Eugenia Velásquez, Gabriela Escalante, Julio Botello, José Juan Escobar, Delia Reyes, Elia Granados, Victor Zendejas, Juan Pablo Labat, José Luis Cobarrubias, Cecilia Rancel, Ana Rancel, Tonatiuh Cruz, Enrique Moreno, Martha Elena García, Ramón Cendejas, Ismael y Hector Coss:

Por compartirme sus conocimientos y ser un faro de luz que ha dejado una huella imborrable en mi formación académica y en mi vida.

A mis Asesores y Sinodales:

Por el tiempo dedicado al presente trabajo.

Exalumnos

Leon Alcocer, Meche Vázquez, Marco Vega, Elsa Sanchez, Jorge Balarezo, Lourdes Arcega, Armando Espinoza, Carlos Morales, Laura, Carlos Del Prado, Emma, Gonzalo Arenas y Paty:

Por su apoyo, amistad y cariño, por sus enseñanzas y por todos los gratos recuerdos.

**A todo el personal de la FES Cuautitlán,
en especial a:**

**Dr. Juan Ramón de la Fuente
(Rector)**

**Carmen Paz B., Carlomagno Domínguez Juárez, Jesús Ramírez
Jaime, Sr. Carlos
(Laboratorios)**

**Draucin Jiménez Celi
(Soplado de vidrio)**

**Ditrich Chavez C., Guadalupe Paz B. y Samuel
(Unidad de Seminarios)**

**Lic. Rommel Flores, Don Guillermo Guzmán,
Don Ricardo Moreno y Sra. Angeles Arrollo
(Biblioteca)**

**Matha Guevara Arzate, Matha E. García P., Laurita
(Secretarias)**

**Ernesto Oropeza O., Darné Domínguez Roblero
(Servicios Escolares)**

**Daniel Romo Pérez, Lic. Edith Reyes Jiménez,
Lic. Mariela Salazar H., Lic. Hilda Colín García
(UNAM Comunidad)**

Por su amistad y amabilidad,
por su apoyo en los diversos proyectos,
por su confianza y porque siempre tuvieron
una sonrisa en los labios para mí

“The share of drugs in future medical spending is likely to increase sharply. But even without full cures, drugs that greatly delay the onset and severity of major diseases will reduce expensive and unproductive time spent in hospitals, nursing homes, and under the care of family members... New drugs have the potential to cut the growth of medical spending sharply. It is crucial to take much better advantage of this potential.”

“Es probable que la porción del gasto médico destinado a medicinas sufra un brusco incremento en futuro. Pero aún sin las curas completas, los fármacos que retrasan ampliamente el ataque y la severidad de las enfermedades mayores reducirán el caro e improductivo tiempo gastado en los hospitales, clínicas y bajo el cuidado de los familiares... Los nuevos medicamentos tienen el potencial para reducir marcadamente el crecimiento de los gastos médicos. Es crucial tomar mucho mayor ventaja de éste potencial.”

-Gary S. Becker, Profesor de la Universidad de Chicago y Premio Nobel 1992, Artículo en BusinessWeek, Marzo 24 del 2004

“High-price new drugs may be the cheapest weapon we have in our ongoing struggle against rising overall medical expenses.”

“Los nuevos fármacos de elevados precios pueden ser el arma más barata con la que contamos en nuestro forcejeo continuo contra el incremento de los gastos médicos globales.”

-JD Kleinke, “The Price of Progress: Prescription Drugs in the Health Care Market,” Health Affairs, 20 (2001): 5, 43-60



I. ÍNDICE

I.	ÍNDICE	i
II.	RESUMEN	v
III.	SUMARY	vi
IV.	ÍNDICE DE FIGURAS.....	vii
V.	ÍNDICE DE TABLAS	ix
VI.	ABREVIATURAS	xi
1.	INTRODUCCIÓN	1
1.1	HONGOS	3
1.1.1	Generalidades	3
1.1.2	Clasificación por Reinos	4
1.1.2.1	Reino Fungi	4
1.1.2.2	Principales Tipos de Hongos	5
1.1.3	Clasificación de las Micosis	6
1.1.4	<i>Candida albicans</i>	8
1.1.4.1	Introducción	8
1.1.4.2	Manifestaciones Clínicas	9
1.1.4.3	Diagnóstico	10
1.1.4.4	Tratamiento	12
1.1.4.5	Prevención	13
1.1.5	<i>Cryptococcus neoformans</i>	14
1.1.5.1	Introducción	14
1.1.5.2	Manifestaciones Clínicas	14
1.1.5.3	Diagnóstico	15
1.1.5.4	Tratamiento	17
1.1.5.5	Prevención	17



1.2 ELABORACIÓN DE NUEVOS MEDICAMENTOS	18
1.3 ANTIMICOTICOS	24
1.3.1 Generalidades	24
1.3.2 Ketoconazol.....	30
1.3.2.1 Indicaciones Terapéuticas	30
1.3.2.2 Farmacocinética y Farmacodinamica en Humanos ..	32
1.3.2.3 Reacciones Adversas.....	34
1.3.2.4 Contraindicaciones.....	35
1.3.2.5 Interacciones Medicamentosas y de Otro Género.....	36
1.3.2.6 Precauciones o Restricciones de Uso Durante el Embarazo y la Lactancia	40
1.3.2.7 Precauciones y Lelacion con Efectos de Carcinogenesis, Mutagenesis, Teratogénesis y Sobre la Fertilidad	40
1.3.2.8 Alteraciones de Pruebas de Laboratorio	41
1.3.3 Nitrate de Miconazol	42
1.3.3.1 Indicaciones Terapéuticas	43
1.3.3.2 Farmacocinética y Farmacodinámica en Humanos ..	43
1.3.3.3 Reacciones Adversas	44
1.3.3.4 Contraindicaciones	45
1.3.3.5 Interacciones Medicamentosas y de Otro Género	45
1.3.3.6 Precauciones o Restricciones de Uso Durante el Embarazo y la Lactancia	46
1.3.3.7 Precauciones y Relación con Efectos de Carcinogenesis, Mutagenesis, Teratogénesis y Sobre la Fertilidad	47
1.3.3.8 Alteraciones de Pruebas de Laboratorio	47
1.3.4 Anfotericina B	48
1.3.4.1 Indicaciones Terapéuticas	48
1.3.4.2 Farmacocinética y Farmacodinámica en Humanos ..	49
1.3.4.3 Reacciones Adversas	50
1.3.4.4 Contraindicaciones	51
1.3.4.5 Interacciones Medicamentosas y de Otro Género	51
1.3.4.6 Precauciones Generales	51
1.3.4.7 Precauciones o Restricciones de Uso Durante el Embarazo y la Lactancia	53



DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.



UNAM
CUAUTITLÁN

1.3.4.8	Precauciones y Relación con Efectos de Carcinogenesis, Mutagenesis, Teratogénesis y Sobre la Fertilidad	53
1.3.4.9	Alteraciones de Pruebas de Laboratorio	53
1.3.4.10	Sobre Dosificación o Ingesta Accidental	54
1.3.5	Carbamatos	55
1.3.5.1	Farmacocinética y Farmacodinámica.....	57
1.3.5.2	Reacciones Adversas	58
1.3.5.3	Interacciones Medicamentosas	58
1.3.5.4	Poliuretanos	59
1.4	MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE ANTIFÚNGICOS	60
1.4.1	Sensistire Yeast One	60
1.4.2	ASTY Colorimetric Panel	62
1.4.3	Fungitest	63
2.	JUSTIFICACIÓN	66
3.	HIPÓTESIS	68
4.	OBJETIVOS	69
4.1	OBJETIVOS GENERALES	69
4.2	OBJETIVOS PARTICULARES	69
5.	MATERIALES, Y MÉTODOS	70
5.1	METODOLOGÍA	70
5.2.1	Medios de Cultivo	73
5.2.1.1	Preparación de Medios de Cultivo	73
5.2.1.2	Prueba de esterilidad	73
5.2.2	Levaduras	73
5.2.2.1	Pruebas de Identificación de las Levaduras	73
5.2.2.2	Conservación de las Levaduras	74
5.2.2.3	Preparación de las Levaduras para su Cosecha	75
5.2.2.4	Preparación de la Solución Stock de Levaduras	76
5.2.2.5	Estandarización de las UFC por mililitro	76
5.2.2.6	Dilución de la Solución Stock de Levaduras	77
5.2.3	Principios Activos	78



DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.



UNAM
CUAUTITLÁN

5.2.3.1	Preparación de las Diluciones	78
5.2.4	Llenado de Placas	82
5.2.4.1	Inoculación de la Micro placa para Determinar las MIC's de los Antifúngicos de Referencia	82
5.2.4.2	Inoculación de la Micro placa para Determinar las MIC's de los Carbamatos	82
5.2.5	Lectura y Susceptibilidad	86
5.2.5.1	Criterios de Lectura	86
5.2.5.2	Criterios de Susceptibilidad	86
5.2.6	Controles de Calidad	86
6.	RESULTADOS	89
7.	DISCUSIÓN	95
8.	CONCLUSIONES	99
9.	GLOSARIO	100
10.	ANEXOS	117
10.1	ACABA CON LOS HONGOS	117
10.2	ANTIMICÓTICOS EN MÉXICO	120
10.3	MATERIALES, REACTIVOS, INSTRUMENTAL Y EQUIPO	122
10.4	PRUEBAS CRUZADAS	124
11.	REFERENCIAS	127
12.	COMPACT DISC	
12.1	TESIS (Microsoft Word)	
12.2	PRESENTACIÓN (Power Point)	
12.3	ESQUEMAS (Power Point)	
12.4	GRÁFICAS (Excel)	
12.5	IMÁGENES (JPG, BMP y Power Point)	



II. RESUMEN

Por su carácter oportunista durante las últimas décadas las enfermedades fúngicas han incrementado su incidencia debido a diversos factores, entre los que destacan:

- El acrecentamiento en la población de padecimientos crónicos como: Diabetes, Cáncer y SIDA; aumento de la densidad poblacional y deficiencia en los servicios de sanidad, el incremento en la resistencia de mohos y levaduras a los fármacos antifúngicos (AF) existentes actualmente en el mercado, y la frecuencia, cada vez mayor, con que se realizan intervenciones quirúrgicas.

En la búsqueda de nuevos compuestos con actividad biológica contra estos microorganismos, que presenten mayor efecto terapéutico, menor costo y/o menor toxicidad que los fármacos utilizados actualmente, se determinó la actividad biológica de una serie de 21 fenilcarbamatos en 2 levaduras de aislamiento clínico: *C. albicans*, *C. neoformans*, y 1 cepa ATCC de *C. albicans*. En este trabajo se discute la actividad antifúngica de tales compuestos mediante la comparación de la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) de los carbamatos sintetizados en el Laboratorio de Química Medicinal de Postgrado de ésta institución, contra la MIC del Ketoconazol (KET), del Nitrato de Miconazol (NM) y de la Anfotericina B (AB); utilizando una adaptación a la técnica de microdilución en caldo, estandarizada por la NCCLS (1997).

De los 21 derivados de ácido carbámico probados 5 presentaron actividad biológica contra los microorganismos estudiados, mostrando el mismo perfil de sensibilidad «*in vitro*» las dos cepas de *C. albicans* y la de *C. neoformans*, para 4 de los carbamatos obteniéndose una ligera inhibición de crecimiento a una concentración de 128 µg/ml con los compuestos **LQM 905**, **LQM 906** y **LQM 996**, y una prominente reducción de crecimiento a la concentración de 8 µg/ml el compuesto **LQM 667**. Para las cepas de *C. albicans* se observó una inhibición total de crecimiento a 64 µg/ml con el fenilcarbamato **LQM 935**, mientras que *C. neoformans* ante este derivado del ácido carbámico mostró un ligero crecimiento a esta concentración y una inhibición total de crecimiento a 128 µg/ml.



III. SUMMARY

For their opportunist character during the last decades the fungic illnesses have increased their incidence due to diverse factors, among those that highlight:

- The increase in the population of chronic sufferings as: Diabetes, Cancer and AIDS; increase of the populational density and deficiency in the services of sanity; the increment in the resistance of the molds and yeasts to the existent antifungic (AF) drugs at the moment in the market, and the frequency, every bigger time, with which they are carried out surgical interventions.

In the search of new made up with biological activity against these microorganisms that present bigger effect therapeutic, smaller cost and/or smaller toxicity that the drugs used at the moment, the biological activity of a 21 fenilcarbamates serie was determined in 2 clinical isolates of yeasts: *C. albicans*, *C. neoformans*, and a stump ATCC of *C. albicans*. In this work the antifungic activity of such compounds discusses by means of the comparison of the Inhibitory Minimum Concentration (MIC) of the carbamates synthesized in the Laboratory of Medicinal Chemistry of Posgrade of this institution, against the MIC of the Ketoconazol (KET), of the Miconazole Nitrate (NM) and of the Anfotericina B (AB); using an adaptation to the microdilution technique in broth, standardized by the NCCLS (1997).

Of the 21 derived of carbamic acid proven 5 presented biological activity against the studied microorganisms, showing the same profile of sensibility "*in vitro*" the two stumps of *C. albicans* and that of *C. neoformans*, for 4 of the carbamates being obtained a slight inhibition of growth at a concentration of 128 $\mu\text{g/ml}$ with the compound LQM 905, LQM 906 and LQM 996, and a prominent reduction of growth at the concentration of 8 $\mu\text{g/ml}$ using the compound LQM 667. For the stumps of *C. albicans* a total inhibition of growth was observed at 64 $\mu\text{g/ml}$ with the fenilcarbamate LQM 935, while *C. neoformans* for this derived of the carbamic acid showed a slight growth at this concentration and a total inhibition of growth at 128 $\mu\text{g/ml}$.



IV. ÍNDICE DE FIGURAS.

Figura 1	El proceso de descubrimiento, desarrollo y aprobación de un nuevo fármaco en USA.	20
Figura 2	El proceso de descubrimiento, desarrollo y aprobación de un fármaco en USA.	21
Figura 3	Primer diagrama de flujo de la metodología.	71
Figura 4	Segundo diagrama de flujo de la metodología.	72
Figura 5	Preparación de las distintas diluciones de los antifúngicos y carbamatos con DMSO.	79
Figura 6	Dilución de las soluciones anteriores de antifúngicos y carbamatos con RPMI para adicionarlos a los pocillos de las microplacas.	80
Figura 7	Llenado de los pocillos de las microplacas para probar la susceptibilidad de las levaduras a los antifúngicos, disueltos en RPMI	81
Figura 8	Llenado de los pocillos de las microplacas con los antifúngicos, carbamatos y levaduras disueltos en RPMI	84
Figura 9	Llenado de los pocillos de las microplacas por sextuplicado para los carbamatos que presentaron actividad contra <i>C. albicans</i> y <i>C. neoformans</i>	85
Figura 10	Susceptibilidad de las 3 cepas de levaduras a AB, KET y NM por el método de microdilución en placa.	93



DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.



UNAM
CUAUTITLÁN

Figura 11	Susceptibilidad de la cepa de <i>C. albicans</i> ATCC a los compuestos probados por el método de microdilución en placa.	93
Figura 12	Susceptibilidad de la cepa de <i>C. albicans</i> a los compuestos probados por el método de microdilución en placa.	94
Figura 13	Susceptibilidad de la cepa de <i>C. neoformans</i> a los compuestos probados por el método de microdilución en placa.	94
Figura 14	Llenado de los pocillos de las microplacas con los antifúngicos, carbamatos y levaduras disueltos en RPMI para analizar las interacciones farmacológicas.	125



V. ÍNDICE DE TABLAS.

Tabla 1	Clasificación de las micosis.	7
Tabla 2	Clasificación de antimicóticos de acuerdo a su origen.	27
Tabla 3	Clasificación de antimicóticos de acuerdo a sus características moleculares.	28
Tabla 4	Clasificación de antimicóticos de acuerdo a sus usos.	29
Tabla 5	Interacciones farmacológicas del KET	37
Tabla 6	Interacciones farmacológicas del NM	45
Tabla 7	Interacciones farmacológicas de la AB	52
Tabla 8	Algunos usos de los carbamatos.	56
Tabla 9	Comparación de las distintas variables experimentales utilizadas en los distintos métodos colorimétricos para la determinación de la sensibilidad a los antifúngicos y el métodos de referencia NCCLS M27-A.	65
Tabla 10	Criterios de susceptibilidad de las levaduras frente a las drogas antifúngicas.	87
Tabla 11	MIC's de las 3 cepas de levadura a los antifúngicos de referencia.	89



Tabla 12	Susceptibilidad de la cepa <i>ATCC 10231</i> de <i>C. albicans</i> a los compuestos probados por el método de microdilución en placa.	90
Tabla 13	Susceptibilidad de la cepa de aislamiento clínico de <i>C. albicans</i> a los compuestos probados por el método de microdilución en placa.	91
Tabla 14	Susceptibilidad de la cepa de aislamiento clínico de <i>C. neoformans</i> a los compuestos probados por el método de microdilución en placa.	92
Tabla 15	Medicamentos antimicóticos disponibles en México.	120
Tabla 16	Combinación de los LQM's con actividad biológica con el Antifúngico de Referencia para determinar si existe sinergismo o antagonismo.	124
Tabla 17	Asignación de claves para cada una de las combinaciones de la tabla 16 para el llenado de pozos conforme a la figura 14	124



VI. ABREVIATURAS

ANTIFUNGICOS

5FC	5-Fluorocitosina
AB	Anfotericina B
AF	Antifúngico
CLO	Clotrimazol
FLI	Flucitosina
FLU	Fluconazol
ITR	Itraconazol
KET	Ketoconazol
NM	Nitrato de Miconazol
TER	Terconazol
PA	Principio Activo

MEDIDAS

µg	Microgramos
mg	Miligramo
g	Gramo
kg	Kilogramo
µl	Microlitros
ml	Mililitro
hrs	Horas
nm	Nanómetros
µm	Micrometros (micras)
mm	Milímetros
lb	Libras
pH	Potencial de Hidrógeno
°C	Grados Centígrados
Conc.	Concentración.
D. O.	Densidad Óptica
Abs	Absorbancia
MIC	Minimal Inhibitory Concentration (Concentración Mínima Inhibitoria)



DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.



UNAM
CUAUTITLÁN

MFC	Minimal Fungicide Concentration (Concentración Mínima Fungicida)
UFC	Unidades Formadoras de Colonias

MICROORGANISMOS

ATCC	American Type Culture Collection (Colección Americana de Cepas de Referencia)
<i>C. albicans</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>C. neoformans</i>	<i>Cryptococcus neoformans</i>
LEV.	Levadura
VIH.	Virus de Inmunodeficiencia Humana
m.o.	Microorganismo

MEDIOS DE CULTIVO

ADP	Agar Dextrosa Papa
ADS	Agar Dextrosa Sabouraud
ASC	Agar Selectivo para <i>Candida</i>

REACTIVOS

ACT	Acetona
DMSO	Dimetil sulfóxido
LQM	Laboratorio de Química Medicinal
MOPS	Morpholinopropanesulfonic acid (Amortiguador), (ácido 3-[N- morpholino] propanosulfónico)
SSF	Solución Salina Fisiológica
Slh.	Solución

INSTITUCIONES

FDA	Food and Drug Administration (Administración de Alimentos y Medicamentos)
IND	Investigational New Drug (Investigación del Nuevo Fármaco)
INDRE	Instituto Nacional de Diagnostico y Referencia Epidemiológica
INEGI	Instituto Nacional de Estadística, Geografía e Informática



DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.



UNAM
CUAUTITLÁN

- NCCLS National Committee For Clinical Laboratory
Standard (Comité Nacional para la Estandarización
de Laboratorios Clínicos)
NDA New Drug Application (Aplicación del Nuevo
Fármaco)
OMS Organización Mundial de la Salud

HORMONAS Y ENZIMAS

- ATCH Hormona Adenocorticotropina
TGO Transaminasa Glutámica Oxaloacética
TGP Transaminasa Glutámica Prúrica

PRESENTACIONES FARMACÉUTICAS

- Cre Crema
Fco Frasco
Ovs Óvulos
Susp Suspensión
Tabs Tabletas

ENFERMEDADES

- SIDA..... Síndrome de Inmuno Deficiencia Humana

OTROS

- IV..... Administración Intravenosa
LCR..... Líquido Céfaloraquídeo
QT Intervalo de un Electrocardiograma
SDD..... Susceptibilidad Dosis Dependiente
SNC..... Sistema Nervioso Central
USA..... United States of America (Estados Unidos de
América)

1. INTRODUCCIÓN.

Los hongos* están ampliamente distribuidos en la naturaleza y pueden formar parte de la microbiota* humana. Bajo ciertas circunstancias los hongos* pueden ser agentes etiológicos* de infección.¹

El inicio de la historia del uso y estudio en América Latina de los hongos* se remonta a la época prehispánica, sobre todo en Mesoamérica. Los pocos archivos sobrevivientes de la destrucción, los códices escritos con posterioridad a tales acontecimientos y los hermosos grabados allí incluidos dan fé del uso de los hongos* (*teonanácatl*, en idioma náhuatl) en la vida diaria y en ceremonias rituales de los habitantes originales de nuestro continente.²

Los hongos* como parte de una disciplina científica, la micología*, sólo se comienzan a estudiar formalmente en América Latina hacia fines del siglo XIX. Dos ramas principales ocupan entonces la atención de los investigadores: la taxonomía* y sistemática de estas especies y la fitopatología*, estudiadas entonces por botánicos; y los hongos* patógenos* para humanos, cuyo estudio en esos períodos iniciales y hasta mediados de este siglo, fue copado casi exclusivamente por médicos.² Las infecciones producidas por hongos* se denominan micosis* y estas pueden ser superficiales, subcutáneas, profundas y sistémicas.³

El uso de xenobióticos* inmunosupresores* en pacientes transplantados, el implante de catéteres, y la pandemia del SIDA han conducido a un incremento notable en la frecuencia de infecciones fúngicas, causadas no sólo por los agentes ya conocidos sino por patógenos emergentes, hasta no hace mucho considerados hongos* oportunistas o no patógenos;^{4,5} considérese que la capacidad de producir infecciones depende de la virulencia del agente, tamaño del inóculo y el estado inmunológico del huésped.⁶ Además, factores como la edad extrema, enfermedad de base*, neutropenia*, terapia* antibacteriana prolongada, procedimientos quirúrgicos invasivos, así como la selección de cepas más virulentas de hongos* han influido para el gran aumento de infecciones oportunistas producidas por estos agentes.^{7,8,9}

En los últimos 20 años se ha observado un aumento progresivo de infecciones invasivas y sistémicas causadas por hongos*, siendo estas infecciones causa importante de morbilidad*, principalmente en pacientes hospitalizados e inmunodeprimidos.¹⁰ La tensión emocional intensa, como la depresión, puede debilitar el sistema inmunitario.¹¹ Todo esto ha contribuido a

ubicar a las infecciones fúngicas como serios problemas de salud pública a los que hay que atender debidamente.²

Las levaduras del género *Candida* son los principales agentes asociados a estos cuadros y al ser parte de la microbiota* del hombre son considerados patógenos oportunistas*. En la década de los 90, se ha observado además, un cambio en el patrón de los agentes etiológicos*, asociados probablemente al apareamiento de especies y selección de cepas menos susceptibles a determinados fármacos antifúngicos.¹⁰ De tal forma que el abanico de hongos* potencialmente patógenos para humanos se ha expandido a más de 270 especies en las últimas décadas. Algunos datos extraídos de la literatura científica reciente nos indican que *Candida albicans* ha pasado de ser un comensal al sexto más común patógeno* nosocomial*.² Mientras que en el contexto de las infecciones por SIDA, la meningitis* criptococal es la micosis* más comúnmente tratada en la vida de los pacientes;^{12, 13, 14} Si bien el cuadro clínico no difirió mayormente de aquel que presentan los enfermos con inmunodepresión de otra etiología*, se destaca la dificultad de su reconocimiento precoz. Es por este motivo que se hace necesario efectuar, en todo paciente portador de SIDA, un exhaustivo relevamiento micológico que incluya pancultivos y serología seriada, a fin de lograr un diagnóstico temprano de esta asociación morbosa.^{15, 16, 17, 18}

Es por esto que el diagnóstico específico del agente y la determinación del perfil* de susceptibilidad* «*in vitro*» presentan consecuencias prácticas para el clínico, en la elección rápida y certera de una mejor conducta terapéutica.^{10, 19}

Actualmente existen en el mercado un sin número de xenobióticos* en diversas presentaciones farmacéuticas que nos permiten prevenir, diagnosticar, tratar, y/o curar distintas enfermedades; sin embargo casi todos ellos presentan, en mayor o menor grado, efectos adversos.

Esto aunado a la resistencia a los fármacos que algunos microorganismos han desarrollado en las últimas décadas, y al surgimiento de nuevas enfermedades, generan la necesidad de crear nuevos medicamentos, más seguros, eficaces y baratos.

1.1 HONGOS.

1.1.1 Generalidades.

Los hongos* son un grupo ubicuo* muy heterogéneo de organismos eucariotas (cromosomas rodeados de una membrana que los separa del citoplasma), con una membrana celular con alto contenido en ergosterol*, pared celular con quitina*, compuesta por polisacáridos* y complejos polisacárido-proteína que determinan una estructura fibrilar* y que carecen de diferenciación tisular*. ^{20, 21, 25}

Son heterótrofos* y no fotosintéticos. Algunos poseen una cápsula polisacárida que les proporciona capacidad inmunogénica* y antifagocítica*. La mayoría producen enzimas que degradan una amplia variedad de sustratos orgánicos. Pueden vivir por tanto, como saprofitos* sobreviviendo muy bien en la naturaleza en materiales orgánicos no vivientes, como parásitos de organismos vivos, o de ambas formas. ^{6, 8, 23}

Sólo pocas de las miles de especies conocidas de hongos* son capaces de causar enfermedades humanas. Casi todas las especies que infectan al hombre están limitadas por sus propios requerimientos nutritivos y por los mecanismos de defensa del huésped, a la invasión de la piel superficial y de los tejidos subcutáneos. ^{20, 24, 25}

Las especies que son capaces de invadir los tejidos más profundos causando serias infecciones de riesgo mortal, son, afortunadamente, poco numerosas. Las infecciones micóticas sistémicas se adquieren por la inhalación accidental de conidios* aerotransportados o por inoculación traumática de suelo contaminado o vegetales; es poco común su contagio en hospitales. Los medicamentos que alteran las inmunodefensas de un paciente lo predisponen a la infección con hongos* que usualmente se consideran saprofitos* inofensivos. Los pacientes con diabetes mellitus, quemaduras graves, leucemia y otras enfermedades debilitantes son igualmente susceptibles a las infecciones sistémicas serias con hongos* que no son comúnmente considerados como patógenos* humanos. ^{13, 16, 17, 26, 27}

1.1.2. Clasificación por Reinos.

Inicialmente, se habían considerado únicamente 2 reinos de seres vivos: el Reino Animal y el Reino Vegetal. En 1866, el zoólogo alemán Haeckel propuso el nombre de protista para incluir en ese reino a todos los microorganismos.²⁸

Actualmente se separa el reino monera del reino protista, debido a la gran diferencia entre organismos unicelulares que carecen de núcleo verdadero, llamados procariontes, como las bacterias (moneras), y los organismos que sí tienen núcleo y organización celular definida, los llamados eucariotes, como los protozoarios (protistas). También los hongos han sido separados de las plantas, pues se consideran totalmente diferentes a ellas.

Así, en la actualidad se considera que existen cinco reinos:

- *Monera* (bacterias)
- *Protista* (protozoarios)
- *Fungi* (hongos)
- *Vegetal* (plantas)
- *Animal*

Las principales diferencias entre los cinco reinos son estudiadas en detalle por las tres ramas principales de la biología, que son:

- *Botánica*: estudia a las plantas.
- *Zoología*: estudia a los animales.
- *Microbiología*: estudia a los microorganismos.²⁹

1.1.2.1. Reino fungi.

Las principales características de los individuos integrantes de este reino son:

- Organismos unicelulares o pluricelulares.
- Carecen de cloroplastos y, por tanto, de clorofila.
- Degradan la materia orgánica en componentes más simples.
- Su reproducción puede ser asexual o sexual.

Los hongos* son eucariotes, unicelulares o pluricelulares, que carecen de pigmentos fotosintéticos. Son organismos descomponedores que digieren externamente los sustratos alimenticios.^{6, 20, 23}

Son organismos heterótrofos*, debido a que carecen de clorofila, y sus reservas energéticas son de glucógeno, como en los animales, y no de almidón, como ocurre en las plantas.^{20, 23}

1.1.2.2. Principales tipos de hongos.

- **El filum *Comycota*** es un grupo muy grande y variado que incluye los hongos de agua, los mohos blancos y el hongo de humedad. Los organismos del filum Oomycota se llaman oomicetos. La mayor parte de los hongos tienen paredes celulares hechas de quitina. La mayor parte de los oomicetos tienen paredes celulares de celulosa, la misma sustancia que se encuentra en las paredes celulares de las plantas. Son pluricelulares y microscópicos, como los mohos.
- **El filum *Zygomycota*** está formado por organismos terrestres. A los miembros de ese filum se les llama zigomicetos. La mayoría de estos son saprófagos. Sin embargo, algunos son parásitos de plantas, de otros hongos o de animales. Todos los zigomicetos se reproducen sexualmente mediante esporas diploides de paredes gruesas llamadas cigosporas.
- **El filum *Ascomycota*** es el grupo más numeroso de hongos, con cerca de 200 géneros. Se reproducen por medio de esporas de origen sexual (ascosporas). A los miembros del filum Ascomycota se les llama ascomicetos. Este filum también incluye algunos hongos responsables de que la comida se dañe. Las levaduras*, ascomicetos unicelulares del género *Saccharomyces*, se usan para hacer pan y cerveza. La palabra *Saccharomyces* quiere decir "hongo del azúcar". Estos hongos viven en alimentos ricos, en azúcar, como el jugo de uvas; en ausencia de oxígeno, son capaces de fermentar azúcares, como glucosa y sacarosa, produciendo alcohol etílico. Este grupo también incluye mohos; algunos hongos muy comunes de los géneros *Penicillium* (utilizado para la producción de penicilina) y *Aspergillus* no tienen reproducción sexual conocida. Estos hongos se clasifican en el filum *Ascomycota* porque forman conidióforos y se reproducen asexualmente mediante la formación de conidios.
- **El filum *Basidiomycota*** está compuesto por los llamados hongos superiores pluricelulares y sus células se agrupan en un cuerpo filamentoso llamado micelio, un ejemplo de este tipo de hongo son las setas. Incluye algunos de los hongos más grandes. Los miembros del

filum Basidiomycota se llaman basidiomicetos. Los basidiomicetos producen esporas en estructuras en formas de bastos llamadas basidios. El viento lleva estas esporas hasta las plantas.^{24, 29, 30}

Los hongos* pueden diferenciarse fácilmente en dos tipos basados en el aspecto macroscópico de sus colonias. Los que producen colonias opacas, cremosas o pastosas se llaman *levaduras*; y los que producen colonias algodonosas, lanosas, esponjosas o pulverulentas áreas por encima del medio de cultivo son *mohos*. Puede citarse un tercer grupo que se desarrolla como levaduras si se cultiva a 37 °C y como mohos si se cultiva a 25-30 °C. A esta inter conversión ambientalmente controlada se le llama dimorfismo*. Casi todos los patógenos sistémicos humanos y algunas especies más de hongos* muestran dimorfismo*.^{24, 31, 32}

La identificación de los hongos* se realiza sencillamente observando el desarrollo de sus colonias y su morfología* macroscópica y microscópica. La textura superficial, el color y la velocidad de crecimiento de las colonias fúngicas, junto con la pigmentación del lado inverso de la colonia, son características importantes de la identificación. Las pruebas bioquímicas también son útiles, especialmente para la identificación de las levaduras, pero lo más importante para la correcta identificación de los mohos son las características morfológicas.³⁰

1.1.3. Clasificación de las Micosis

Las infecciones producidas por hongos* se denominan micosis* y estas pueden ser de diversos tipos dependiendo de su profundidad y características.³

Las múltiples enfermedades causadas por hongos* se han clasificado de la siguiente manera (tabla 1).

Como sabemos los actinomicetos (tabla 1) aún no han sido bien clasificados como hongos o como bacterias, sin embargo, cabe destacar que al igual que para estas últimas, el tratamiento es a base de Ampicilina y Doxiciclina.

En el **anexo 1**, podemos apreciar los síntomas más comunes de infecciones fúngicas, así como las recomendaciones básicas para su tratamiento y prevención.

Tabla 1
Clasificación de las micosis. ^{20, 23, 24, 30, 33}

CLASIFICACIÓN DE LAS MICOSIS	PADEMICIENTO
MICOSIS SUPERFICIALES	Dermatofitosis*, Pitiriasis* versicolor, Candidiasis* , Tiña* negra.
MICOSIS SISTÉMICAS	Blastomicosis*, Coccidiomicosis*, Criptococosis* , Histoplasmosis*, Paracoccidioidomicosis*, Cromoblastomicosis*, Esporotricosis*, Aspergilosis*, Cigomicosis*, Micetoma*.
MICOSIS RARAS	Rinoesporidiosis,
ENFERMEDADES POR ACTINOMICETOS Y BACTERIAS	Actinomicosis*, Botriomicosis*, Eritrasma*, Nocardiosis*, Queratólisis* punteada, Tricomicosis* axilar.

1.1.4. *Candida albicans*.

1.1.4.1. Introducción.

Hasta 1923 estuvo incluido dentro de la especie *Monilia*, siendo Berkout quien aclaró por fin su nueva denominación. Esta autora propuso el término de *Candida* del latín toga *Candida*, en referencia a la blanca toga usada, por los *Candidatos* al Senado Romano. *Albicans* también procede del latín *albicare*, que significa "blanquear". El Index Medicus no reconoce el género *Monilia* o el término "moniliasis" en referencia a esta enfermedad humana desde 1981,³⁴ aunque el término *Candida albicans* fue adoptado oficialmente por el III Congreso Internacional de Microbiología de Nueva York, en 1939.

El género *Candida* está constituido por hongos levaduriformes de la clase Deuteromicetos (Blastomicetos). Pertenece a la división de hongos imperfectos, orden Cryptococales, y familia Cryptococaceae. Se incluyen más de 150 especies; de ellas sólo unas cuantas producen regularmente enfermedades en el hombre.^{35, 36}

Los grandes responsables del aumento de las micosis* graves son los organismos tipo levadura, anteriormente llamados *Monilia*, del género *Candida*, estas se encuentran en el hombre como microbiota* normal del tracto gastrointestinal, incluyendo orofarínge, recto y perineo así como en el tracto urinario y genital femenino.^{24, 37} En estas y en otras localizaciones *Candida spp.* puede ser causa de cuadros clínicos que varían de infecciones simples a procesos invasivos graves, aunque muy rara vez provoca un proceso* patológico* progresivo y sistémico son considerados patógenos oportunistas letales.^{1, 38}

Candida albicans (*Monilia albicans*) es la especie tipo del género siendo la más frecuentemente aislada en los diversos tipos de candidosis.^{24, 39} Es un hongo que produce pseudomicelio* tanto en los cultivos como en los tejidos y los exudados*.^{35, 38}

1.1.4.2. Manifestaciones Clínicas.

Patogenia y patología.

Mediante la inyección intravenosa de suspensiones densas de *C. albicans* al conejo, se obtienen abscesos* muy diseminados, particularmente en el riñón; el animal muere en menos de una semana.^{20,31}

Histológicamente, las diversas lesiones cutáneas en el hombre muestran cambios inflamatorios; algunas lesiones se asemejan a la formación de abscesos* en tanto que otras son similares a un granuloma* crónico*. En ocasiones se encuentran grandes cantidades de *Candida* en el tracto intestinal después de la ingestión oral de antibióticos. Puede ser diseminada por el torrente circulatorio a muchos órganos, provocando la formación de abscesos* miliares*.²⁰

Hallazgos clínicos.

Excepto en algunos raros brotes epidémicos, los pacientes se infectan con *Candida albicans* de la que son portadores y cuando ocurre algún estado local o general de disminución de las defensas naturales; hay predisposición para la candidiasis*.^{24,34} Entre los principales factores predisponentes a la infección por *C. albicans* se encuentran los siguientes: Diabetes mellitus, debilidad genética, deficiencia nutricional, embarazo, algunos trastornos endocrinos*, y disturbios en la flora normal con la ausencia de aquellos componentes bacterianos (por ejemplo lactobacilos) que ordinariamente mantienen restringidas las posibilidades de *Candida* para reproducirse; el desequilibrio de estos componentes generalmente viene como consecuencia de la administración prolongada de agentes antimicrobianos. Además, es probable que los antibióticos del grupo de las tetraciclinas estimulen directamente el crecimiento de las *Monilias*.^{20, 24} El uso de ciertos antibióticos tomados por vía oral en exceso durante cierto período de tiempo, puede originar diarrea aguda, con gran número de *Candida albicans* en las heces. La administración de cortisona* y medicamentos relacionados puede también aumentar la susceptibilidad* a la infección de *Candida*.⁴⁰

A. Aparato Gastrointestinal. La infección de la boca llamada muguet (algodoncillo), se observa en dos grupos de diferente edad: (1) en niños recién nacidos, por lo demás sanos, que adquieren la infección durante sus primeros

días de vida y (2) en niños mayores o en adultos que son especialmente susceptibles, debido a desnutrición o enfermedades debilitantes. Aparecen en el área inflamada de la boca o de las encías, lengua, faringe, esófago, e incluso estómago e intestino; una o muchas placas membranosas blanco-grisáceas que guardan cierto parecido con la membrana de la difteria. En los fragmentos de este material membranoso, examinado microscópicamente, se encuentra parte del pseudomicelio* formado por las *Monilia* y masas de células, tipo levadura. Aunque esta enfermedad no es contagiosa habitualmente, la infección se puede transmitir de niño a niño en los hospitales, si no se tiene cuidado.^{20, 24, 34, 35, 40-43, 45-47}

B. Aparato Genito-Urinario. La vulvovaginitis se parece al algodoncillo, pero produce irritación, comezón intensa y flujo; en mujeres diabéticas o embarazadas es muy común. En el tracto urinario, padecimientos como pielonefritis, cistitis*, uretritis*, prostatitis*, orquiepididimitis* y prostitis, son frecuentes.^{20, 24, 36, 48, 49, 51}

C. Piel y Anexos. La infección de la piel se presenta principalmente en las partes húmedas y calientes del cuerpo, tales como la axila, los pliegues intergióteos, la ingle, o los dobleces inframamarios* y de las regiones anales o entre los dedos de pies; es mucho más común en individuos obesos y diabéticos. Estas áreas se vuelven rojas, húmedas y pueden desarrollar vesículas*. La moniliasis de las manos y las uñas se observa más frecuentemente después de inmersiones prolongadas y repetidas en agua; es más común en sirvientas, amas de casa, cocineros, entre personas que manejan vegetales o pescados, etc. Hay un hinchamiento de la matriz de la uña, semejándose a una paroniquia* piógena*, y engrosamiento y estriación transversal de las uñas.^{17, 20, 24, 26, 50}

D. Aparato Respiratorio. La moniliasis pulmonar puede ser uno de los procesos secundarios en pulmones en los que ya existe una enfermedad (por ejemplo, tuberculosis o cáncer, sobre todo en los períodos terminales de la enfermedad). En la leucemia no controlada, pueden presentarse lesiones de candidiasis* en diferentes órganos.^{17, 20, 24, 50, 51}

1.1.4.3. Diagnóstico.

Candida albicans (*Monilia albicans*) es un hongo levaduriforme* oval y gemante* que produce pseudomicelio* tanto en los cultivos como en los tejidos y los exudados*. Es miembro de la flora normal de las mucosas de los tractos

respiratorio, gastrointestinal y genital femenino. En estas y en otras localizaciones puede llegar a tener preponderancia y estar asociado a condiciones patológicas. Muy rara vez provoca un proceso* patológico* progresivo y sistémico.^{3, 20, 36, 41}

Morfología e identificación.

En frotis hechos a partir de exudados*, *Candida* aparece como una levadura Gram positiva, que mide de 2 a 3 por 4 a 6 micras, y también en forma de células alargadas formando hifas Gram positivas. En medio Sabouraud glucosado, incubado a la temperatura del laboratorio, se desarrollan colonias blandas, color crema, que tienen olor a levadura.^{31, 48} El crecimiento superficial está formado por células ovales y gemantes*, en tanto que el crecimiento sumergido está formado por pseudomicelio*, el cual está compuesto de células largas adheridas unas a otras, formando blastosporas en los nodos* y clamidosporas* terminalmente. *C. albicans* fermenta la glucosa y la maltosa, produciendo tanto ácido como gas; produce ácido de la sacarosa, y no ataca a la lactosa; la fermentación de carbohidratos, junto con las características coloniales y morfológicas, diferencian a *C. albicans* de otras especies de *Candida* (*C. krusei*, *C. parakrusei*, *C. stellatoidea*, *C. tropicalis*, *C. pseudo tropicalis*, *C. guilliermondi*), las cuales ocasionalmente forman también parte de la flora humana normal, pero rara vez están relacionadas con un proceso* patológico*.^{3, 20, 23}

Estructura antigénica.

Mediante pruebas de aglutinación con sueros absorbidos todas las cepas de *Candida albicans*, quedan comprendidas en 2 grupos distintos, Ay B. El grupo A parece ser idéntico a *C. tropicalis*, el grupo B a *C. stellatoidea*.^{1, 20, 31}

Diagnóstico de laboratorio.

Muchos adultos normales poseen anticuerpos aglutinantes contra *Candida*, de modo que los hallazgos serológicos carecen de valor diagnóstico.²⁰

A. Especímenes. Raspado de las lesiones superficiales, esputo* y exudados*.^{34, 36, 41}

B. Observación microscópica. Los esputos* y los exudados* pueden ser examinados en fresco o en frotis teñidos según la técnica de Gram, buscando células levaduriformes*; las descamaciones de la piel o los raspados de uñas se colocan primero en una gota de hidróxido de potasio al 10%.^{23, 39, 48}

C. Cultivo. Todos los Especímenes se cultivan en medio de Sabouraud glucosado (al que se agrega penicilina y estreptomycin) tanto a la temperatura del laboratorio como a 37 °C; alrededor de tres días después de la siembra, se forman colonias húmedas, lisas y cremosas con un definido olor a levadura. Las colonias son examinadas al microscopio en busca de células levaduriformes* y de pseudomicelio*.¹⁹ La producción de clamidosporas* por *C. albicans* constituye una importante prueba diferencial: éstas pueden ser producidas ya sea en gelosa-harina de maíz o en el medio para clamidosporas* de Nickerson y Mankowski. La siembra se realiza haciendo una estría sobre la superficie de la placa de agar con una asa. La estría se cubre luego con un cubreobjetos estéril. Debajo de éste se forma un pseudomicelio*, y a los dos días, aproximadamente, aparecerán las características clamidosporas* de pared gruesa de esta especie.^{20, 23, 24, 48}

1.1.4.4. Tratamiento.

La terapia* con buenos resultados en la Moniliasis grave es a menudo difícil. La curación de lesiones localizadas se facilita con la aplicación de solución acuosa de violeta de genciana al 1%. Los antibióticos fungicidas Fluconazol, Itraconazol, Nistatina y AB son los agentes indicados para el tratamiento de esta infección, siendo ésta última utilizada únicamente como "último recurso" debido a su elevada toxicidad.²³

Las lesiones locales son tratadas convenientemente eliminando la causa: evítase la humedad; manténgase las áreas frescas, polveadas y secas; y suspéndase el empleo de antibióticos. Como tratamiento se pueden emplear antimicóticos tópicos u orales como el KET, el NM y el FLU. En ocasiones se han defendido tanto la terapia* por sueros como por vacunas, pero no se han presentado evidencias convincentes de su efectividad.^{10, 52} Se han empleado varios agentes químicos contra el hongo con más o menos éxito; por ejemplo, violeta de genciana al 1% para el algodoncillo, ésteres del ácido parahidroxibenzoico o propionato de sodio para la vaginitis. El empleo de rayos X fue ocasionalmente de utilidad en el tratamiento de la complicación de las uñas, sin embargo es un tratamiento muy radical, y por ello, se haya en desuso.

La Nystatina (Mycostatina) es efectiva contra la Moniliasis vaginal e intestinal.^{6, 20, 23, 26, 55}

Actualmente la mejor opción terapéutica para la candidosis oroesofágica resistente a azoles asociada al SIDA son los tratamientos antirretrovíricos de gran eficacia. Desde que estos tratamientos están disponibles se ha observado una disminución espectacular en la incidencia de candidosis oroesofágica resistente a azoles.^{4, 5, 19, 26, 31, 53}

Mecanismos de resistencia.

Se han podido identificar distintos mecanismos de resistencia en *Candida* como la mutación puntual en el gen que codifica el enzima lanosterol 14a desmetilasa o la hiperexpresión de dicho gen y el aumento de la expulsión del azol por hiperexpresión de los genes que codifican a las proteínas de transporte CDR y MDR.^{38, 53, 54}

1.1.4.5. Prevención.

Epidemiología y control.

La infección por *Candida* es contagiosa, aunque la mayoría de los individuos son portadores del organismo en circunstancias normales. La medida preventiva más importante es evitar la interferencia con el balance normal de la flora microbiana.^{20, 36, 52}

1.1.5. *Cryptococcus neoformans*.

1.1.5.1. Introducción.

La Criptococosis* (torulosis) es una enfermedad relativamente rara, causada por una levadura patógena llamada *Cryptococcus neoformans*, cuyo antiguo nombre es *Torule histolitica*.²⁴ Es un hongo levaduriforme* encapsulado que lleva vida libre en el suelo y las heces de los pichones; causa enfermedad respiratoria y neurológica en el hombre y los animales. Se piensa que la criptococosis*, al igual que otras enfermedades fúngicas sistemáticas, se adquiere por inhalación del hongo a partir de fuentes localizadas en el medio ambiente.^{3, 56, 57}

1.1.5.2. Manifestaciones Clínicas.

Cuando un hongo se disemina desde un foco primario en el pulmón, las manifestaciones pueden ser características. Por ejemplo, la criptococosis* se suele presentar como meningitis* crónica, enfermedad diseminada progresiva como afectación del sistema reticuloendotelial (hígado, bazo, médula ósea, próstata, ojo, corazón y riñón).^{8, 58, 59}

Patogenia.

La inyección intraperitoneal* o intratecal* de *C. neoformans* al ratón da lugar a una infección fatal, de la cual el microorganismo puede ser recuperado en cultivo puro. La infección en el hombre ocurre por el tracto respiratorio. La infección pulmonar primaria puede ser seguida por una diseminación general y la invasión del Sistema Nervioso Central (SNC).^{20, 60}

Histológicamente, la reacción va desde una inflamación moderada hasta los típicos granulomas*.^{1, 12, 15, 20}

Hallazgos clínicos.

En el hombre la consecuencia clínica más frecuente de la infección con *C. neoformans* es una meningitis* crónica que se desarrolla lentamente, con remisiones y recidivas* espontáneas y frecuentes. La meningitis* puede simular

un tumor cerebral, un absceso* cerebral, una meningitis* sifilítica o tuberculosa, o enfermedades degenerativas del SNC, produciendo cefalea, visión borrosa, náuseas así como alteraciones en la memoria y la marcha. La presión y el contenido en proteínas del líquido cefalorraquídeo pueden estar muy aumentados; la cuenta celular puede estar ligeramente elevada; el azúcar del líquido cefalorraquídeo es normal o bajo. Además, puede haber lesiones de la piel y de los pulmones u otros órganos.^{20, 27, 61, 62, 64}

El curso de la meningitis* criptocócica puede extenderse a muchos años, a menudo con largas remisiones, pero parece que todos los casos no tratados son fatales. La enfermedad no es contagiosa de persona a persona. Se han aislado *Cryptococcus* patógenos en el suelo, la leche y en las heces de los pájaros, los que pueden servir como fuente de infección.^{63, 64}

1.1.5.3. Diagnóstico.

Cryptococcus neoformans es un hongo levaduriforme*, gemante* y capsulado tanto en el cultivo como en los exudados*. De este basidiomiceto* existe en tres variedades: *C. neoformans* var. *grubii* (serotipo A) y *C. neoformans* var. *neoformans* (serotipo D), ambos de distribución mundial y *C. neoformans* var. *gatti* (serotipos B y C), de distribución limitada a regiones tropicales y subtropicales,⁵⁶ algunos autores, solo manejan 3 serotipos y dos variedades; sin embargo, no se han reportado diferencias significativas en la susceptibilidad de las cepas de diferentes serotipos.⁶⁵⁻⁶⁸

Morfología e identificación.

En el líquido cefalorraquídeo o en los tejidos, el organismo es esférico u ovoide, de 5 a 12 micras de diámetro, a menudo gemante*, y rodeado de una cápsula de gran tamaño. En medio de Sabouraud, a la temperatura del laboratorio, las colonias son brillantes, mucoides y de color café claro; los organismos suspendidos a partir del cultivo tienen la misma apariencia que en los tejidos. No produce micelio. Los cultivos del organismo son inactivos bioquímicamente. *Cryptococcus neoformans* puede también crecer a 37°C en la mayoría de los medios de cultivo, y se diferencia en esta forma de las especies no patógenas de *Cryptococcus*.^{20, 25, 63, 69-71}

Estructura antigénica.

Entre las diferentes cepas han sido identificados cuando menos tres tipos serológicos de material capsular, denominados A, B y C; algo del material capsular se disuelve en el líquido cefalorraquídeo y da un precipitado en presencia de suero específico anti-*Cryptococcus*. Tal suero también da positiva una reacción de hinchazón de la cápsula. Los pacientes con criptococosis* progresiva no desarrollan anticuerpos específicos.^{15, 20, 25, 63, 66-68}

Diagnóstico de laboratorio.

A. Especímenes. Para aislamiento: líquido cefalorraquídeo, exudados*, esputo*.^{15, 72}

B. Observación microscópica. Las muestras se examinan en fresco, ya sea directamente o después de mezclarlos con tinta china, lo que hace que las grandes cápsulas se destaquen claramente alrededor de las células levaduriformes* gemantes* de paredes gruesas y de una sola yema.^{6, 20, 23, 24, 73}

C. Cultivo. El crecimiento es rápido a 20-37°C tanto en medio de Sabouraud glucosado como en otros medios de cultivo. Las células obtenidas por cultivos deben ser inoculadas a ratones para determinar su patogenicidad*; también es aconsejable la inoculación directa de los productos patológicos*.^{38, 74} Los microorganismos pueden a menudo ser demostrados microscópicamente en ratones inyectados por vía intraperitoneal* o intracerebral. Su capacidad para multiplicarse libremente (a diferencia de las levaduras inocuas) a la temperatura de 37°C, el hecho de no producir micelio tipo moho a temperatura ambiente y su patogenicidad* para el ratón, conducen a su identificación como *Cryptococcus neoformans*.^{24, 65, 72}

D. Otras pruebas. Es posible demostrar una reacción específica de precipitina si el líquido cefalorraquídeo, sangre u orina del paciente se mezcla con suero anticriptocócico de conejo con título elevado. Se ha sugerido recientemente la medición de los niveles de un polisacárido* criptocócico en el suero del paciente, como procedimiento útil en el diagnóstico y pronóstico de la enfermedad.¹² Se han usado varias técnicas serológicas, como la tinción inmunofluorescente y las pruebas de aglutinación en portaobjetos con anticuerpos cubiertos de partículas de látex, para demostrar la presencia de anticuerpos de anticriptococos en sueros de los enfermos. Sin embargo, el paciente con *Cryptococcus* en su forma progresiva es aparentemente incapaz de

formar anticuerpos específicos que ofrezcan resistencia efectiva. Probablemente se presenta cierto grado de hipersensibilidad que no desempeña papel significativo en la enfermedad.^{20, 63, 75}

1.1.5.4. Tratamiento.

La mayoría de los agentes antimicrobianos son inefectivos, pero la Actidiona® y la AB, aunque tóxicas, han dado lugar a varias curas aparentes.^{10,}

²⁰ La principal causa del fracaso del tratamiento es la hipertensión intracraneal. Se están analizando terapias alternativas.^{53, 75- 79}

1.1.5.5. Prevención.

Epidemiología y control.

El suelo que contenga *C. neoformans* es la fuente de infección tanto para el hombre como para los animales. Hasta el momento actual no existe ningún método de control.^{20, 61, 80}

La protección contra la infección por *Cryptococcus neoformans* implica la producción de anticuerpos protectores que favorecen la fagocitosis e impiden la adhesión y la colonización del hongo.⁸¹ El tipo de anticuerpo producido, así como la especificidad en el epítipo* reconocido es regulado por varios factores, entre ellos las citoquinas* presentes en el micro ambiente tisular*.⁸² El IFNg y la IL-10 entre otras, pueden participar en esta regulación la cual puede ser evidente no solo al analizar la concentración de la citoquina en un momento dado sino al estudiar la cinética de producción en relación con la generación y especificidad de la respuesta humoral*. La susceptibilidad* y resistencia a la infección por *Criptococo* puede ser el reflejo de una diferencia sutil en estos mecanismos.⁵⁸ El estudio y comprensión de estos mecanismos, pudiera conducir en un futuro a la generación de medidas preventivas o de tratamiento mediante la estimulación de éstos mecanismos.^{60, 75, 83, 84}

1.2 ELABORACIÓN DE NUEVOS MEDICAMENTOS.

No se puede negar que las medicinas innovadoras de nuestros días, han vuelto muchas enfermedades y padecimientos, que alguna vez fueron una vez virtuales penas de muerte en condiciones tratables, incluso la diabetes, deficiencia cardiaca congestiva, y algunas formas de cáncer. Los medicamentos de prescripción también pueden aliviar los síntomas de artritis y otras dolencias crónicas, y ellos pueden ayudar a prevenir padecimientos degenerativos, como osteoporosis que alguna vez fue considerada una consecuencia normal de envejecer. Además han sido cruciales al favorecer un incremento en la productividad de los individuos, con el consecuente impacto socio-económico.⁸⁵⁻⁸⁹

La humanidad se beneficia claramente de los esfuerzos de la industria farmacéutica; hoy día, esos esfuerzos apenas pueden caracterizarse como altruistas. Los productores de "medicamentos maravilla" son una de las empresas más lucrativas en los Estados Unidos; su margen medio de ganancia de 15% les ha dado un retorno anual a los inversionistas del 25% durante la última década.^{90, 91} Por ello, las Grandes Farmacéuticas constantemente están aumentando su compromiso en Investigación y Desarrollo. En el 2000, las compañías invirtieron más de \$26 mil millones de dólares en descubrir y desarrollar las nuevas medicinas, siendo el Cancer, SIDA, Diabetes y Alzheimer algunas de las más estudiadas.^{88, 92-96}

Sin embargo, dado que los países ricos tienen la mayoría del capital, y que las industrias farmacéuticas existentes les pertenecen casi en su totalidad a estos, las investigaciones farmacéuticas se enfocan en los problemas de salud de interés a sus mercados, como la obesidad, enfermedad del corazón, y cáncer, y no en la malaria y otras enfermedades predominantemente del tercer mundo. Esto provoca que no contemos con medicamentos adecuados a todas las necesidades de nuestra población, y que las ganancias de lo que pagamos por los medicamentos que consumimos no se queden en nuestro país, generando así una importante pérdida de divisas que tanta falta nos hacen.^{91, 96}

Por ésta razón resulta crucial que los países en vías de desarrollo como el nuestro inviertan en investigación para la generación de nuevos medicamentos, acordes a nuestras necesidades sanitarias y que nos permita la generación y reinversión de las divisas generadas en nuestra nación.

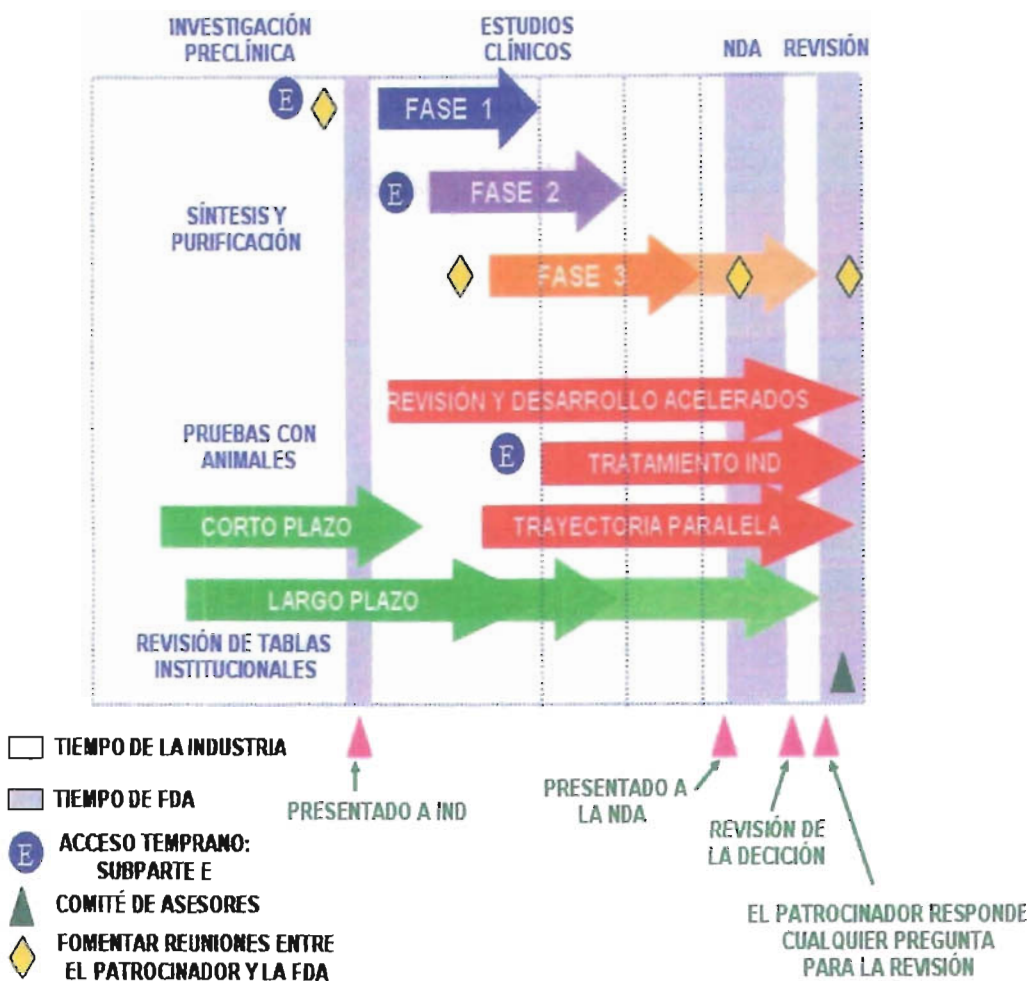
No obstante, hay que considerar que la industria farmacéutica correctamente señala que el costo de una medicina simplemente no es el costo de sus ingredientes. Las Grandes Farmacéuticas sostienen que el descubrimiento, desarrollo, pruebas, y el lograr la aprobación regulatoria para las nuevas medicinas no resulta barato: Por cada 5000 fármacos inicialmente evaluados en las pruebas preclínicas, en promedio, se aprueban por ejemplo sólo 5 para los ensayos clínicos, y de éstos 5 sólo 1 es aceptado para comercializarse para su uso en pacientes. De acuerdo con esto, la industria cree fuertemente que los réditos de los fármacos "exitosos" deben cubrir los costos de la inmensa mayoría de "perdedores".⁹⁶ Además se ha de considerar lo siguiente:

- ✓ El costo promedio de traer una nueva medicina para comercializar es \$500 millones de dólares.
- ✓ Toma un promedio de 12 a 15 años para descubrir y desarrollar una nueva medicina. La mayoría de ese tiempo es utilizado en probar los medicamentos para asegurarse que sean seguros.
- ✓ A pesar de que el costo de desarrollar medicamentos es muy elevado, el tiempo que las compañías tienen para recuperar su inversión está encogiéndose debido a la creciente competencia de los medicamentos genéricos.
- ✓ Las compañías consolidan la investigación en medicinas futuras y en mejoras a las medicinas existentes con los réditos de las medicinas en el mercado. Uno de cada cinco dólares de los réditos es invertido en Investigación y Desarrollo. Las Compañías Farmacéuticas están trabajando ahora en más de 1,000 nuevos fármacos -para la enfermedad de Alzheimer, apoplejía, la fibrosis cística, y artritis, para nombrar algunos. Más de 350 las medicinas están exclusivamente en la línea para el cáncer.^{96,98}

Empero el costo de medicinas no refleja su enorme valor para los pacientes, la sociedad, y el sistema del cuidado de la salud.^{87,88,96}

La **figura 1** nos muestra el orden de los pasos requeridos para la generación de un nuevo medicamento en USA, así como los momentos en que interviene la **FDA** [Food and Drug Administration (Administración de Alimentos y Medicamentos)] y en que la industria debe proporcionar los informes al **IND** [Investigational New Drug (Investigación del Nuevo Fármaco)] y a la **NDA** [New Drug Application (Aplicación del Nuevo Fármaco)].

Figura 1
 El proceso de descubrimiento, desarrollo y aprobación
 de un nuevo fármaco en USA.⁹⁹



Como podemos observar en la **figura 2**, parte de algunas etapas pueden realizarse de manera simultánea para reducir un poco los tiempos, siempre y cuando los resultados obtenidos en las fases anteriores sean alentadores.

Figura 2
Tiempo invertido para la generación
de un nuevo fármaco en USA.⁸⁶

Tiempo Aproximado que Dura Cada Etapa



PRUEBAS PRECLÍNICAS

- Se evalúan 5,000 compuestos
- Estudio *in vitro* e *in vivo* (animales)
- Evaluar: seguridad, actividad biológica, vías de administración y formulaciones
- Se presenta un informe IND a la FDA para iniciar las pruebas en humanos (periodo de 30 días para su aprobación o desaproación)

FASE I

- Involucra de 20 a 100 voluntarios normales sanos.
- Se estudia cómo funcionan los fármacos (absorción, distribución, biotransformación, excreción, duración del efecto y perfil de seguridad incluyendo rango de dosis segura)
- De los 5,000 compuestos estudiados en las pruebas preclínicas, solamente 5 pasan a esta fase.

FASE II

- Involucra de 100 a 500 pacientes voluntarios que padezcan la enfermedad
- Se estudia la efectividad de los fármacos y sus efectos adversos, evaluando Riesgo vs Beneficio

FASE III

- Involucra de 1000 a 5000 pacientes voluntarios en clínicas y hospitales
- Se prueban los fármacos para confirmar su efectividad
- Se evalúan sus efectos adversos cuando son usados un largo plazo

REVISIÓN DE LA FDA

- Se entrega el informe NDA a la FDA
- Comúnmente contienen 100,000 páginas o más reuniendo la información recabada a lo largo de TODO el proceso
- Deben demostrar con éxito la seguridad y efectividad del fármaco
- El nuevo fármaco es revisado y aprobado o rechazado
- De los 5 compuestos probados en las pruebas clínicas (fases I, II y III), sólo 1 es aprobado.

FASE IV

- Pruebas adicionales de evaluación de efectos adversos a largo plazo, requeridos por la FDA
- No son solicitadas para todos los fármacos

Además, también es posible reducir este tiempo en determinadas circunstancias como es el caso de pacientes que padezcan enfermedades terminales y que acepten ser voluntarios para la investigación de tratamientos alternativos relacionados con sus padecimientos.

Para la Etapa Preclínica los requerimientos mínimos de la FDA son:

- Métodos de síntesis y/o extracción del fármaco.
- Pruebas para su identificación plena, pureza y estabilidad del compuesto en cuestión.
- Desarrollar un perfil* farmacológico de la sustancia activa.
- Determinar la toxicidad aguda del fármaco en al menos 2 especies diferentes de animales (un roedor y un no roedor).
- Determinar las vías de administración, la cantidad absorbidas, su distribución, el efecto producido y mecanismo de acción que se supone que tiene, como es biotransformado, la toxicidad del activo y de sus productos de biotransformación, la velocidad y vías de excreción del activo y productos de biotransformación.
- Toda esta información se presenta en un IND a la FDA , la cuál después de un periodo de 30 días da su resolución.
- Una vez que se ha tenido su aprobación, se procede con las Pruebas Clínicas.^{98, 99, 100}

Para la Etapa Clínica los requerimientos mínimos de la FDA son:

- La determinación de los parámetros farmacocinéticas y farmacodinámicos en humanos.
- El perfil* y rango de seguridad del fármaco.
- Determinación de la toxicidad a corto, mediano y largo plazo en pacientes voluntarios sanos y enfermos.
- Esta información se presenta en un NDA (aproximadamente 100,000 páginas que contengan toda la información obtenida) a la FDA , la cuál debe resolver por Ley en 6 meses, pero demoran en promedio 16.2 meses en dar su resolución.^{98, 99, 100}

Para la Etapa Clínica los requerimientos mínimos de la FDA son:

- La determinación de los parámetros farmacocinéticas y farmacodinámicos en humanos.
- El perfil* y rango de seguridad del fármaco.

- Determinación de la toxicidad a corto, mediano y largo plazo en pacientes voluntarios sanos y enfermos.
- Esta información se presenta en un NDA (aproximadamente 100,000 páginas que contengan toda la información obtenida) a la FDA, la cuál debe resolver por Ley en 6 meses, pero demoran en promedio 16.2 meses en dar su resolución.^{98, 99, 100}

Una vez aprobado por la FDA:

- El medicamento queda disponible para la prescripción médica.
- La Compañía debe someter reportes periódicos a la FDA, incluyendo cualquier caso de reacciones adversas y registros de control de calidad.
- Para algunos medicamentos, la FDA requiere estudios adicionales (Fase IV) para evaluar los efectos a largo plazo.^{98, 99, 100}

1.3 ANTIMICÓTICOS.

1.3.1 Generalidades.

En la Edad Media, Theophrastus Bombastus von Hohenheim, quien escogió el pseudónimo de Paracelso, estableció el concepto fundamental de la *dosis* en toxicología para explicar por qué una misma sustancia podía causar o no daño, o lo que era más importante, actuar como remedio o como veneno. Lo anterior lo resumió en su famoso apotegma*: "*dosis sola facit venenum*", lo que se podría traducir como que "**Todo es veneno dependiendo de la dosis**".¹⁰¹ Basados en esto, debemos considerar que tanto los fármacos existentes actualmente, como los que se generen en un futuro presentarán cierto grado de toxicidad para el hombre, por esta razón, en la búsqueda de nuevos fármacos un objetivo clave es disminuir la toxicidad de estos, además también se persigue el incrementar los efectos terapéuticos y/o abatir los costos.¹⁰²

La mayoría de los hongos* son completamente resistentes a la acción de medicamentos antibacterianos*. Solo unas cuantas sustancias descubiertas ejercen un efecto inhibitorio sobre los hongos* patógenos para el humano y casi todas ellas son relativamente tóxicas, razón por la cual, existe una gran necesidad de mejorar los medicamentos antimicóticos.^{3,103}

Hay una variedad de antimicóticos y su clasificación se basa primordialmente en su modo de acción su origen y estructura molecular; se clasifican en 5 grupos principales: Azoles, Polienos, Flucitosina, Griseofulvina y algunos xenobióticos* que por sus propiedades químicas han demostrado ser útiles en la terapia* antimicótica. La creación de nuevos fármacos ha abierto un gran campo de investigación que constituye todo un reto en el tratamiento de las micosis* y la lucha por su erradicación.^{23,52}

Las micosis* invasivas son de difícil tratamiento, siendo la **Anfotericina B (AB)** el fármaco de elección, dado su amplio espectro y acción fungicida. Sin embargo, este antifúngico presenta varias desventajas, es nefrotóxico*, ingresa al SNC, afecta el globo ocular y además su costo es muy alto; a pesar de esto la AB es la terapia* empírica de las micosis* invasivas.⁹⁰ Los agentes antimicóticos de origen azólicos, especialmente **Ketoconazol (KET)**, **Nitrato de Miconazol (NM)**, itraconazol y fluconazol son una buena alternativa en el

* Palabras que se encuentran en el glosario

tratamiento de las fungemias, estos agentes tienen un amplio espectro de actividad. A diferencia de la AB que se administra sólo por vía intravenosa, los derivados azólicos se administran por vía oral y son menos tóxicos, pero solamente tienen una acción fungistática contra la mayoría de los hongos* patógenos.⁷² Las drogas antifúngicas están dirigidas contra alguna vía de la síntesis de membrana de los hongos*, actuando en el ergosterol*, que es el análogo del colesterol en las células de los mamíferos. El ergosterol* cumple una función fundamental en la fluidez y la integridad de la membrana.¹⁰² Los polienos dentro de los cuales está la AB y nistatina, se intercalan dentro de la membrana fúngica formando un canal por el cual los componentes celulares, especialmente el potasio, se filtran destruyendo la gradiente de protones dentro de la membrana. Los azoles en cambio inhiben la biosíntesis del ergosterol*, ya que actúan contra la enzima lanosterol desmetilasa.^{6, 20, 51}

El creciente surgimiento de levaduras resistentes es un fenómeno esperado ya que el tratamiento con antimicóticos es realizado por períodos prolongados.⁷² Este fenómeno se ha observado en cepas de *C. albicans* de serotipo A, aisladas de pacientes con SIDA,¹⁶ y en levaduras aisladas de infección urinaria en pacientes cateterizados e internados.^{9, 55} Estudios recientes han revelado que el resultado de la clínica y evolución de la levadura dependen de su susceptibilidad* «*in vitro*» a los antifúngicos.^{54, 104} Varios grupos relatan que cepas de *C. albicans*, tienen MIC's elevadas frente a fluconazol, KET, NM e itraconazol.^{9, 17, 50} Este fenómeno de resistencia ocurre con casi todos los hongos* patógenos para el hombre debido a la incidencia cada vez mayor de enfermedades que comprometen el sistema inmunológico, como cáncer, diabetes y SIDA, también el uso de esteroides*, así como el incremento en la cantidad de intervenciones quirúrgicas; además nos enfrentamos a que debido a las situaciones antes informadas, muchas levaduras y mohos que antes no se consideraban como patógenos para el hombre, han ido cobrando importancia clínica.^{12, 15, 105}

A raíz de toda la documentación descrita del fenómeno de resistencia primaria y adquirida de levaduras frente a los antifúngicos comerciales, así como la necesidad de alternativas terapéuticas a los azoles y a la AB queda en evidencia la importancia de realizar estudios de susceptibilidad* «*in vitro*» que abran el camino al surgimiento de nuevos fármacos; sin embargo, no se debe olvidar que el éxito en este tipo de análisis para la generación de un nuevo fármaco, es apenas el primer paso dentro de todo un contexto de investigación

de pruebas preclínicas y clínicas, las cuales pueden durar más de una década, antes de que el medicamento salga finalmente al mercado.^{25, 103, 106}

Los antimicóticos pueden ser clasificados de diversas maneras dependiendo de su origen, sus características moleculares y sus usos. (tablas 2, 3 y 4)

También hay plantas medicinales que tienen propiedades fungiestáticas, como muestra tenemos el extracto etanólico del clavo de olor (*Eugenia caryophyllus*) y la bandera dulce (*Acorus calamus*) los cuales son agentes fungistáticos potenciales contra las levaduras.¹⁰⁷

El ajo es otra planta con una considerable actividad antimicótica contra una enorme variedad de hongos* como agente antiproliferativo, utilizada desde los romanos, este tubérculo es de considerable utilidad.²⁸

Los lactobacilos también son utilizados como fungicidas naturales en el tracto gastrointestinal contra candidiasis*, pues al cambiar el pH del medio matan a las levaduras, y son empleados en la medicina tradicional como emplastes para micosis* tópicas.

Nos encontramos en una nación muy rica en recursos naturales y que posee una amplia tradición en el estudio de plantas medicinales, conocimientos que a través de los siglos se fueron acumulando y han pasado de una generación a otra, remedios que han sido utilizados durante cientos de años con resultados satisfactorios y cuyo estudio nos ahorraría décadas de trabajos infructuosos, recursos y capital; sin embargo, son aprovechados por grandes farmacéuticas extranjeras que al comprender la enorme valía de estas nociones vienen a entrevistarse con nuestros curanderos y shamanes de las zonas rurales en nuestro país, llevándose con ellos no solamente este conocimiento, sino enormes cantidades de estas plantas (de manera legal e ilegal) para estudiarlas y extraer de ellas los principios activos causantes de su efecto terapéutico, ahorrándose una enorme suma de capital y muchas de las pruebas clínicas para determinar la seguridad de estos compuestos ya que han sido utilizados durante muchos años por las personas de éstas comunidades; mientras que nosotros impasiblemente estamos dejando que estos conocimientos se disipen diluidos en las arenas del tiempo y que los ecosistemas con estos inestimables recursos se pierdan por deforestación y contaminación.

Tabla 2

Clasificación de antimicóticos de acuerdo a su origen.^{30, 108}

Agentes físicos	Radiaciones	Rayos UV (2 000 a 1 800 °A)
		Rayos X.
	Temperatura (calor de más de 40 ° C)	
	Ultrasonido	
Agentes químicos	Antiguos	Sistémicos
		Diamidinas aromáticas, Estilbamidina, Pentamidina, Propamidina, Sulfonamidas, Sulfonas, Yoduro de potasio.
	Tópicos	Ácidos grasos (ácido undecilénico), Álcalis (bicarbonato de sodio), Colorantes (violeta de genciana, fucsina, verde brillante), Alcoholes y fenoles, Derivados del ácido benzoico, Ungüento de Whitfield, Disulfuro de Selenio, Halógenos (I, Cl, Br), Hipoclorito de sodio a 20%, Metales pesados (Hg, Ag, Cu, Zn), Piritione de zinc, Pirrolnitrina, Tolciclato, Tolnaftato.
		5- Fluorocitosina (sistémico) Alilaminas (tópicos y sistémicas) Imidazoles (tópicos y sistémicos)
Antibióticos producidos por microorganismos	Por hongos	Griseofulvina
	Por actinomicetos	Derivados poliénicos
		AnfotericinaB, Nistatina
	Saramicetina (no disponible)	

Tabla 3
 Clasificación de antimicóticos de acuerdo a sus características
 moleculares.^{109, 110}

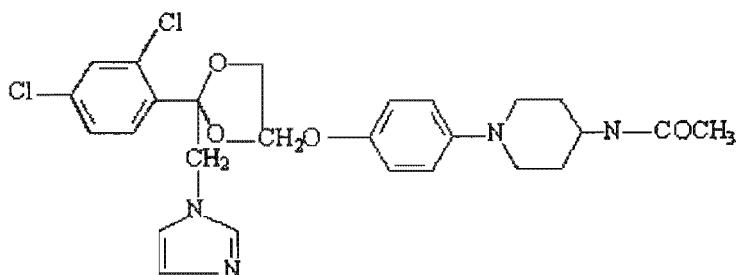
FAMILIA	SUSTANCIAS REPRESENTATIVAS
Polienos	Candidita, Filipina, Nistatina, Anfotericina B , Tricomicina.
Análogos precursores de ácidos nucleicos	5 – fluorocitosina.
Azoles (imidazoles)	Bifonazol, Croconazol, Eberconazol, Fenticonazol, Fluconazol, Flutrimazol, Ketoconazol , Nitrato de Miconazol, Isoconazol, Omoconazol, Oxiconazol, Sertaconazol, Sulconazol, Tioconazol, y otros.
Antisépticos o desinfectantes	Ácido Salicílico, Ácido Undecilénico, Cloruro de Aluminio, Permanganato de Potasio, Pomada de Drew, Pomada de Witfield, Propionato Sódico, Quinoleina Halogenada, Sulfato de Cobre, Tintura de Castellani, Tintura de Yodo, Undecilato de Zinc, Violeta de Genciana.
Lipopéptidos	Aculeacina A, Cilofungina, Equinocandinas, Esporofungina, Xilocandinas,
Alilaminas	Naftifina, Terbinafina.
Nucleósidos péptidos	Nicomicina, Polioxima, Tunicamicina,
Derivados de la morfolina	Amorolfina
Derivados de la piridona	Ciclopiroxolamina.
Derivados del bezofurano	Griseofulvina
Otros antifúngicos de clasificación diversa	Alicina, Bacilisina, Cispentatina, Estramineofungina, Flavovirina, Histona HI, Micolásas, Oligómeros fenólicos, Papulacandinas Benanomicinas, Restricticina, SCH 40873, etc.

Tabla 4
 Clasificación de antimicóticos de acuerdo a sus usos. ^{33, 108, 111, 112}

FÁRMACO	COMENTARIOS
Fármacos para micosis sistémicas	
Anfotericina B	IV exclusivamente, espectro adecuado, nefrotoxicidad, además es el único que atraviesa barrera hematoencefálica. Es el único fármaco antimicótico que atravieza barrera hematoencefálica.
Flucostatina	Espectro estrecho, suspensión medular ósea
Fluconazol	IV u oral, buena absorción y distribución orales, de acción prolongada
Ketoconazol	Buena absorción oral, salvo en presencia de una disminución del ácido gástrico, distribución limitada, inhibe CYP3A4
Itraconazol	Muy lipófilo, de manera que la ingestión con las comidas aumenta la absorción oral, es biotransformada, inhibe CYP3A4
Griseofulvina	La ingestión con las comidas aumenta la absorción
Fármacos orales para micosis cutáneas	
Terbinafina	Buena absorción oral, fungicida, tratamiento más breve
Fármacos tópicos para micosis* cutáneas	
Clotrimazol	Alta eficacia contra dermatofitos
Miconazol	Máxima eficacia contra dermatofitos
Ciclopirox	Alta eficacia contra dermatofitos
Tolnaftato	Buena eficacia contra dermatofitos
Haloprogina	Buena eficacia contra dermatofitos
Ácido undecilénico	Menor eficacia contra dermatofitos

* Palabras que se encuentran en el glosario

1.3.2 Ketoconazol.



(±) cis-1-acetyl-4-(4-[2-[2,4-dichlorophenyl]-2-[1H-imidazol-1-ylmethyl]-1,3-dioxolan-4-yl]-methoxy]phenyl)piperazine.

[65277-42-1]

$C_{26}H_{28}Cl_2N_4O_4$
PM = 531.4^{113, 114}

Fármaco antimicótico, se emplea en el tratamiento de la candidiasis* oral, vaginal o de uñas. Este medicamento requiere de un medio ácido para su mejor absorción, por lo que no debe tomarse junto con un antiácido, se recomienda tomar con refresco de cola para disminuir el pH gástrico. No debe usarse en combinación con los inhibidores de proteasa, en su lugar se recomienda el fluconazol, no debe usarse durante el embarazo, ni con insuficiencia hepática grave. La isoniacida disminuye su concentración sérica.^{113, 115}

Consultando el **anexo 2**, podemos apreciar que de los 44 productos farmacéuticos que se encuentran actualmente en el mercado nacional, 9 contienen este principio activo.¹¹¹

1.3.2.1 Indicaciones Terapéuticas.

El KET es un derivado sintético imidazoldioxolano y un antimicótico de amplio espectro.⁷

➤ Candidiasis*.

✓ Candidiasis* mucocutánea crónica causada por *Candida spp.*

- ✓ Candiduria causada por *Candida spp.* Sin embargo, en el tratamiento de las infecciones renales y urinarias, la concentración de KET urinario puede ser insuficiente como agente de segunda elección en el tratamiento de las cromomicosis causadas por *Cladosporium carrionii*, *Exophiala dermatitis*, *Fonsecaea pedrosoi*, *F. compactum*, *Phialophora verrucosa*, debe asociarse a su escisión quirúrgica coccidioidomicosis pulmonar y diseminada causada por *Coccidioides immitis*, en pacientes inmunológicamente comprometidos y sin localización meníngea.
- ✓ Candidiasis* vaginal recurrente, recomendándose su utilización en la pareja.
- Coccidioidomicosis pseudoallescheriasis y paracoccidioidomicosis* siempre y cuando no sea grave y no esté localizada en meninges y los pacientes sean inmunológicamente competentes.
- Histoplasmosis* pulmonar diseminada causada por *Histoplasma capsulatum* en pacientes inmunológicamente comprometidos.
- Dermatofitosis* (tiña* de la piel lampiña resistente a la griseofulvina, tiña* corporal, tiña* crural o inguinal, tiña* podal o pie de atleta, onicomosis y tiña* varicolor o pitiriasis* versicolor, tanto en casos leves como graves. Tres géneros de dermatófitos son los causantes de estas infecciones *Trichophyton*, *Microsporum canis* y *Epidermophyton floccosum* (los más frecuentes son *T. rubrum*, *T. mentagrophytes*, en la tiña* versicolor el agente causal es *Pityrosporon orbiculare*) y en la candidiasis* de la piel.
- Infecciones cutáneas graves resistentes a la terapéutica con griseofulvina tópica.
- Blastomicosis* pulmonar y diseminada en pacientes inmunológicamente competentes y sin localización meníngea.
- Dermatitis seborreica cuando se demuestra la presencia de *Pityrosporum ovale* o *Malassezia ovale*.
- Amibiasis mucocutánea crónica.^{7, 10, 33, 55, 102, 103, 116- 118}

Tratamiento profiláctico en pacientes con disminución de los mecanismos de defensa (inherente, causado por enfermedad o medicamentos), que incluyen un riesgo de infección micótica.

No penetra bien el en SNC, por tanto, la meningitis* micótica no debe ser tratada con KET oral.¹⁰⁶

No es eficaz en el tratamiento de la *Torulopsis* o contra el *Mucor* y *Aspergillus*, así como en las meningitis* micóticas.¹¹¹

La eficacia del KET es variable pero suele ser inadecuado en la

esporotricosis* linfocutánea, la criptococosis* pulmonar, la cromomycosis y el micetoma*. ¹⁰⁸

El KET no es irritante en primera instancia, carece de sensibilidad alérgica o potencial fototóxico en aplicación tópica. ¹¹¹

1.3.2.2 Farmacocinética y Farmacodinámica en Humanos.

Absorción.

La aplicación por vía tópica no produce niveles detectables en sangre. La absorción oral de KET es variable entre los individuos, ya que es un agente dibásico y por ello requiere de un medio ácido para su disolución y absorción, hay una disminución pronunciada de su disponibilidad en los pacientes que reciben agentes bloqueantes de los receptores histaminérgicos H₂ (ranitidina, famotidina, cimetidina) la administración simultánea de KET y antiácidos o anticolinérgicos también puede deteriorar la absorción. ^{103, 111, 115}

Algunas referencias dicen que la administración de alimentos no tiene un efecto significativo sobre su concentración plasmática máxima, sin embargo, otras aseveran lo contrario. Normalmente es absorbido rápidamente después de su administración oral. ^{103, 105, 108, 111}

Los pacientes con hipoclorhidria pueden presentar una marcada reducción en la absorción de KET. ^{102, 108, 111}

Distribución.

Se distribuye bien en líquidos tisulares, en el líquido sinovial inflamatorio, saliva, bilis, orina, leche materna, glándulas sebáceas de la piel, cerumen, heces, tendones, piel y tejidos blandos, y testículos (en pequeñas cantidades) atraviesa la barrera hematoencefálica en escasa cantidad: sólo cantidades insignificantes alcanzan el LCR (se han reportado concentraciones de 2.2-3.0 mcg/ml LCR con niveles séricos correspondientes de 9-12 mcg/ml. La mayoría de los estudios reportan concentraciones 1 mcg/ml, como raras, dependiendo la dosis). También el KET pasa a través de la placenta. ^{105, 116}

El KET alcanza valores aproximados de 4, 8 y 20 mcg/ml después de la ingestión de 200, 400 y 800 mg. La vida media varía con el incremento de la dosis y la administración repetida desde 3.3 hasta 7 u 8 horas (esta última con 800 mg).

En la sangre, el 84% del KET está unido a proteínas plasmáticas, en su mayor parte albúmina; el 15% se une a los eritrocitos y el 1% está libre.¹¹¹

Este fármaco alcanza los queratinocitos en forma eficaz y su concentración en el líquido vaginal se aproxima a la del plasma. La concentración del KET en el SNC de los pacientes con meningitis* micótica es menor del 1% de su concentración plasmática.^{33, 55, 102, 111}

Mecanismo de Acción.

El KET es un antimicótico fungistático y fungicida dependiendo de la concentración; inhibe la biosíntesis del ergosterol* y otros esteroides tanto en los pacientes como en los hongos* mediante la inhibición de los sistemas enzimáticos dependientes del citocromo P-450, dañando la membrana celular del hongo y alterando su permeabilidad lo que resulta en la pérdida de elementos esenciales intracelulares.¹¹⁹

El efecto principal del KET sobre los hongos* es mediante la inhibición de la esterol 14 alfa-desmetilasa, un sistema enzimático dependiente del sistema microsomal P-450, de esta manera deteriora la biosíntesis del ergosterol* para la membrana citoplasmática y llevan a la acumulación de 14 alfa-metilesteroides, éstos pueden romper la estrecha unión de las cadenas acilo de los fosfolípidos, afectando la función de ciertos sistemas enzimáticos de membrana e inhiben su crecimiento.^{102, 120}

También inhibe la biosíntesis de triglicéridos y fosfolípidos del hongo y además, inhibe la actividad de enzimas oxidativas y peroxidativas, dando como resultado la formación de concentraciones tóxicas de peróxido de hidrógeno que contribuyen al deterioro de organelos subcelulares y necrosis* celular. En *Candida albicans*, inhibe la transformación de blastóforos en la forma invasiva de micelios. El KET además inhibe la biosíntesis de esteroides*.^{33, 108}

Su mecanismo de acción consiste en inhibir el sistema citocromico que causa la 14-desmetilación del lanosterol, el precursor del ergosterol*, y con ello interfiere en la síntesis de este último; El KET, es más activo durante la fase activa de crecimiento del hongo, este efecto es fungistático.^{102, 103, 111, 116}

Biotransformación.

El KET se biotransforma en forma extensa. Su biotransformación es hepática por enzimas microsomales, biotransformado principalmente por

oxidación y degradación en sus anillos imidazol y piperacino. La insuficiencia hepática moderada no afecta el metabolismo del KET y no modifica sus concentraciones sanguíneas.¹⁰³

El KET no es modificado por las diálisis* ni la hemodiálisis*.^{7, 33, 111}

Excreción.

Su principal vía de eliminación es la biliar, el 13% de esta cantidad se elimina por vía renal y de 2-4% se excreta en orina sin cambios. Los productos inactivos aparecen en las heces. Las concentraciones urinarias de fármaco activo son muy bajas.^{102, 111}

1.3.2.3 Reacciones Adversas.

Cefalea*, nerviosismo, dispepsia*, vómito, (lo cuales disminuyen si se administran con alimentos, a la hora de acostarse o en dosis dividida, ya que el vómito es dosis-dependiente, 20% de los pacientes que toman 400 mg diarios lo presentan), fotofobia*, parestesia*, vértigo, diarrea, anorexia, estrefimiento, salpullido* 4%, prurito* 2%, erupción alérgica. La suspensión del fármaco mejora la sintomatología, la administración del fármaco con alimentos, a la hora de acostarse o en dosis divididas puede mejorar la tolerancia.^{111, 121, 122}

Es importante advertir al paciente en tratamiento crónico* de síntomas de daño hepático como fatiga anormal con fiebre, orina oscura, heces pálidas o ictericia.¹²³ Los factores que incrementan el riesgo de hepatitis son mujeres de más de 50 años, tratamiento previo con griseofulvina, antecedentes de daño hepático, intolerancia conocida al medicamento y uso concomitante* de medicamentos que afecten al hígado. Deberán realizarse pruebas de funcionamiento hepático en tratamiento de más de 2 semanas (antes del tratamiento, después de 2 semanas y por último al mes). Si se confirma el daño hepático la terapia* debe ser discontinuada.^{119, 120, 124}

La hepatotoxicidad principalmente de tipo hepatocelular se ha reportado en 1 de cada 10,000 pacientes expuestos al KET, generalmente, pero no siempre es reversible cuando se suspende el tratamiento. En raras ocasiones se han reportado casos fatales. También se han reportado casos de hepatitis en niños. También casos de hepatitis asintomática.^{122, 125}

Se han reportado casos raros de hepatitis, así como de hipersensibilidad, elevación de transaminasas; puede producir hepatitis en algunos casos necrosis*

hepática.¹²⁴

Dado que el KET inhibe la biosíntesis de esteroides* tanto en los pacientes como en los hongos*, mediante inhibición de sistemas enzimáticos dependientes de la citocromía, P-450, pueden presentarse anomalías endocrinológicas* como irregularidades menstruales 10%, en el hombre puede aparecer ginecomastia* y disminución de la libido y la potencia. Con la utilización de dosis altas se han reportado azoospermia* sin producir esterilidad permanente.^{98, 121, 126} Dosis de 400 mg puede producir una caída transitoria de las concentraciones plasmáticas de testosterona y de C-17 beta estradiol* libres; también puede ocasionar una disminución transitoria de la respuesta de la hidrocortisona* plasmática estimulada por la ACTH, y se han utilizado dosis de 800 a 1,200 mg para suprimir la hidrocortisona* plasmática en pacientes con enfermedad de Cushing*^{127, 128} y se han evaluado estas dosis en pacientes con carcinoma prostático.^{111, 122} Puede aparecer hipertensión y retención de líquidos. La hepatitis asintomática es rara pero potencialmente fatal, puede producirse después de unos pocos días y demostrarse (los síntomas iniciales pueden ser náuseas, vómito, anorexia, malestar con dolor abdominal sordo o sin el). Existen reportes en el sentido de que pudieran ocasionarse cambios electrocardiográficos (alargamiento del Q.T.) por lo que se tendrá presente.^{129, 130}

Reacciones adversas reportadas con muy baja frecuencia son: trombocitopenia*, alopecia*, impotencia e incremento reversible de la presión intracraneal (ejemplos: papiledema*, abultamiento de la fontanela* en infantes).

En relación a las pruebas clínicas realizadas con KET al 2% se ha observado que un 5% de los pacientes pueden llegar a presentar irritación y sensación de ardor en la aplicación tópica.¹¹¹

Es importante esperar un mes antes de iniciar la terapia* si el paciente está recibiendo griseofulvina.¹⁰⁵

Debe evitarse la aplicación del polvo en mucosas o en piel lacerada. Tener cuidado de que no llegue a caer en los ojos.¹¹¹

1.3.2.4 Contraindicaciones.

Embarazo, lactancia o uso pediátrico. En casos de hipersensibilidad al KET o algún otro componente de la fórmula.

El KET no es eficaz en pacientes con alcoholismo activo en remisión o con insuficiencia hepática.^{105, 111, 122}

Por su toxicidad hepática este medicamento no debe prescribirse en trastornos poco graves como infecciones micóticas de piel o uñas, ni en caso de pacientes con enfermedad hepática aguda o crónica. Una evaluación sobre el riesgo/beneficio deberá realizarse antes de utilizar KET en enfermedades que no ponen en peligro la vida y que requieren tratamientos por periodos prolongados.^{30, 98}

Con los siguientes medicamentos: terfenadina, astemizol, cisaprida, triazolam, midazolam oral quinidina, pimozide, inhibidores de la HMG-CoA reductasa biotransformada por la encima CYP3A4 como la simvastatina y la lovastatina.

Es importante advertir al paciente en tratamiento crónico*, de síntomas de daño hepático como fatiga anormal, fiebre, orina oscura, heces pálidas o ictericia. Los factores que incrementan el riesgo de hepatitis son: mujeres de más de 50 años, antecedentes de daño hepático, intolerancia conocida al medicamento, tratamiento a largo plazo y uso concomitante* de medicamentos que afecten al hígado.^{103, 122}

En casos de encontrarse síntomas de hepatitis o cuando las pruebas de funcionamiento hepático confirmen enfermedad hepática, la terapia* debe ser rápidamente descontinuada.^{108, 109}

A veces ocurre un leve incremento transitorio de las transaminasas o fosfatasa alcalina. Esta reacción asintomática es inocua y no es necesario suspender la terapia*, pero estos pacientes deben ser vigilados.^{33, 105}

En voluntarios, una dosis de 400 mg o más de KET oral ha demostrado reducir la respuesta de cortisona* para la estimulación de ACTH, por lo tanto, la función adrenal* debe ser monitorizada en pacientes con insuficiencia adrenal* o con función adrenal* limitada y en pacientes sometidos a periodos prolongados de estrés (cirugía mayor, terapia* intensiva, etc.).¹¹¹

1.3.2.5 Interacciones Medicamentosas y de Otro Género.

Se tiene documentada la interacción del KET con varios medicamentos, la **tabla 5** las resume.

Tabla 5
 Interacciones farmacológicas del KET. ^{30, 111, 115, 131- 134}

INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS	EFECTO	MEDIDAS A TOMAR
Efectos de otros medicamentos sobre el KET:		
Medicamentos que afectan la acidez gástrica: Ritonavir	Incrementa la biodisponibilidad del KET	Se debe considerar reducir la dosis de KET administrada, si su uso es concomitante.
Medicamentos que afectan la acidez gástrica: Antiácidos (cimetidina, ranitidina o famotidina) antagonistas H ₂ , antiulcerígenos, omeprazol, pantoprazol, didanosina.	Estos fármacos disminuyen la acidez del estómago reducen la absorción del KET	Evitar su uso. Si es esencial, no tomarlos menos de 2 horas después de la administración de KET
Efectos del KET sobre el metabolismo de otros medicamentos:		
Medicamentos que no deben ser utilizados durante el tratamiento con KET: Terfenadina, astemizol, cisaprida, triazolam, midazolam oral, quinidina, pimozide, inhibidores de la reductasa HMG-CoA biotransformada por el CYP3A4 como simvastatina y lovastatina.	La inhibición de la oxidación hepática puede aumentar los niveles plasmáticos de los fármacos. Con astemizol se corre el riesgo de sufrir arritmias cardíacas. Para los antifúngicos imidazólicos, con posible riesgo de prolongación del intervalo QT y/o de taquicardia* ventricular. La simvastatina,	Evitar la utilización concomitante

* Palabras que se encuentran en el glosario

INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS	EFECTO	MEDIDAS A TOMAR
	cuando se administran en forma conjunta al KET disminuye los niveles plasmáticos de colesterol.	
<p>Medicamentos en los que se deben vigilar los niveles plasmáticos, efectos o efectos secundarios:</p> <ul style="list-style-type: none"> ➤ Anticoagulantes orales como warfarina; ➤ Inhibidores de proteasas anti-HIV, como indinavir, saquinavir; ➤ Ciertos agentes antineoplásicos como vinca alcaloides, busulfán, y docetaxel; ➤ Bloqueadores de canales de calcio metabolizados por el CYP3A4 como dihidropiridinas y probablemente verapamil; ➤ Ciertos agentes inmunosupresores*: Ciclosporina, tacrolimus; ➤ Otros: digoxina, carbamazepina, buspirona, alfentanil, sildenafil, alprazolam, midazolam I.V., rifabutina, metilprednisolona y 	<p>KET puede inhibir la alteración de fármacos biotransformados por enzimas hepáticas P450, especialmente de la familia del citocromo 3A. Esto puede resultar en un incremento y/o prolongación de sus efectos, incluyendo los efectos adversos.</p>	<p>Su dosificación, si es co-administrada con KET, debe ser reducida de ser necesario.</p> <p>Monitorizar los niveles plasmáticos de los fármacos y la función renal.</p> <p>Pueden ser utilizadas estas combinaciones con fines económicos</p>

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
 ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS	EFECTO	MEDIDAS A TOMAR
trimetroxate.		
Medicamentos que afectan el metabolismo de KET: Rifampicina rifabutina, carbamazepina, isoniacida, ácido nicotínico y fenitoína	Pueden reducirse los niveles sanguíneos de KET, pues al ser inductores enzimáticos, aceleran su depuración	Monitorizar los niveles plasmáticos
Fenilhidantoína	Puede alterarse la biotransformación de uno o ambos fármacos	Monitorizar los niveles séricos de ambos
Otros: Alcohol	Similares a los de disulfiram, caracterizados éstos por enrojecimiento facial, rash**, edema periférico, náuseas y dolor de cabeza.	Estos síntomas desaparecen completamente en pocas horas.
Corticoesteroides* tópicos	Un efecto rebote después de detener un tratamiento prolongado	Para prevenirlo es recomendable el continuar aplicando el corticoesteroide* tópico junto con KET y subsecuentemente ir eliminando gradualmente la terapia* con esteroides* durante un periodo de 2 a 3 semanas.

* Palabras que se encuentran en el glosario

1.3.2.6 Precauciones o Restricciones de Uso Durante el Embarazo y la Lactancia.

El KET atraviesa la placenta. No se han realizado estudios adecuados y bien controlados en humanos. Sin embargo, estudios en ratas con dosis de 80 mg/kg/día (10 veces la dosis máxima recomendada en humanos), han demostrado que el KET es teratogénico, causando sindactilia* y oligodactilia*. El KET también ha demostrado ser embriotóxico en ratas a dosis de 80 mg/kg durante el primer trimestre del embarazo, el KET se excreta en la leche materna y puede aumentar la posibilidad de kernicterus* en el bebé lactado, por lo tanto en la lactancia no debe administrarse. Asimismo puede causar distocia* en el parto.^{111, 129}

Es recomendable precisar la función hepática antes de su uso y cada 3-4 meses durante el tratamiento. La elevación de transaminasas puede ocurrir aun sin evidencia de hepatitis clínica y en tal circunstancia el tratamiento deberá ser discontinuado de inmediato.^{25, 105}

Se desconoce si el KET al 2% administrado tópicamente pudiera resultar en niveles plasmáticos suficientes que provocarán cantidades detectables en la leche materna. Queda a criterio del médico la valoración en suspender la aplicación del producto.¹¹¹

1.3.2.7 Precauciones y Relación con Efectos de Carcinogénesis, Mutagénesis, Teratogénesis y Sobre la Fertilidad.

Los riesgos reportados son con relación a la teratogenicidad, en animales de laboratorio (ratas) ha ocasionado oligodactilia* y sindactilia*. Sin embargo, no se han reportado alteraciones carcinogénicas ni mutagénicas con el uso de KET.¹³⁵

Se ha demostrado que el KET disminuye o desaparece los niveles plasmáticos de testosterona, sobre todo cuando se usa a grandes dosis (800 a 1,600 mg/día). También se ha demostrado que en las personas causa alteraciones menstruales, oligospermia*, azoospermia*, impotencia y disminución de la libido.^{111, 121}

1.3.2.8 Alteraciones de Pruebas de Laboratorio.

Pueden aparecer alteraciones en la función hepática pudiendo modificarse transaminasas, bilirrubinas, etc. Puede aparecer hipoglucemia y alteraciones hormonales, así como disminución de las concentraciones de lípidos.^{108, 109}

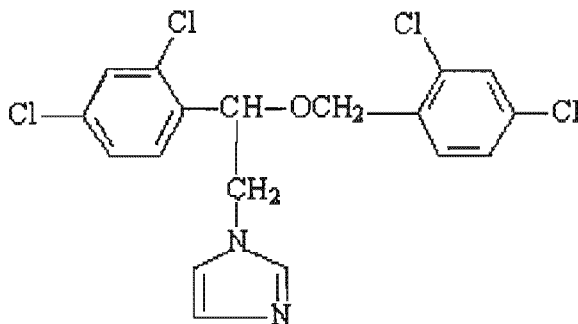
Con **KET** el nivel terapéutico de 200 mg una vez al día, se puede observar una disminución transitoria en los niveles de testosterona en plasma. Los niveles de testosterona se normalizan dentro de las 24 horas después de la administración de **KET**. En tratamientos a largo plazo a esta dosis, los niveles de testosterona no son diferentes significativamente de los controles.^{65, 111}

Se ha demostrado que una dosis de 400 mg o más de **KET** por vía oral reduce la respuesta de cortisol* para la estimulación de ACTH, por lo tanto, la función adrenal*, debe ser monitorizado en pacientes con función adrenal* limitada y en pacientes sometidos a periodos prolongados de estrés (cirugía mayor, terapia* intensiva, etc.).^{25, 111}

Los niveles séricos de TGO, TGP, fosfatasa alcalina y bilirrubinas pueden incrementarse con el uso de **KET**.^{116, 121}

Puede presentarse, en algunas ocasiones, un moderado y transitorio incremento asintomático de transaminasas o fosfatasas alcalinas, en pacientes con infecciones micóticas, sean o no tratadas con **KET**. Esta reacción asintomática es inocua y no requiere una discontinuación de la terapia*.¹¹¹

1.3.3 Nitrato de Miconazol



El Miconazol lo podemos encontrar sólo o con ácido nítrico, cuando esta solo sus datos son:

1-(2,4-dichloro-β-[2,4-dichlorobenzyl)oxy]phenethyl-1)imidazole.

[75319-48-1]

C₁₈H₁₄Cl₄N₂O

PM = 416.13 ^{113, 114}

Cuando tiene ácido nítrico es conocido como Nitrato de Miconazol, y sus datos son:

1-(2,4-dichloro-β-[2,4-dichlorobenzyl)oxy]phenethyl-1)imidazole mononitrate.

[22832-87-7]

C₁₈H₁₄Cl₄N₂O * HNO₃

PM = 479.14 ^{113, 114}

Es un derivado sintético del 1-fenetil-imidazol. Principio activo de medicamentos antimicóticos, es decir para combatir hongos* dañinos al organismo, localizados en la boca, la piel o la vagina.¹¹³

Como se muestra en el **anexo 2**, de acuerdo al PLM 2003, de los 44 productos farmacéuticos que se encuentran actualmente en el mercado nacional, 5 contienen este principio activo, lo cual lo convierte en el segundo antimicótico más utilizado para la elaboración de formulaciones antimicóticas.¹¹¹

1.3.3.1 Indicaciones Terapéuticas.

Infecciones de la piel y de las uñas debidas a los dermatofitos, levaduras y otros hongos*, tales como:

- *Tinea capitis, corporis, mannum, pedis* (pie de atleta), *barbae, cruris*.
- *Tinea unguium*.
- Pitiriasis* versicolor.
- Candidosis de la piel y de las uñas. Micosis* de la boca y áreas circunvecinas con muguet, (algodoncillo). Aftas orales candidiásicas, boqueras, glositis* candidiásica. Candidosis de los portadores de prótesis dentales. Prevención de la proliferación de *Candida* en el tubo digestivo, por ejemplo: debido al uso prolongado de antibióticos y esteroides*.
- Estomatitis angularis.

Posee un efecto bactericida sobre bacterias grampositivas, por ello puede utilizarse en micosis* secundariamente infectadas por tales organismos.

NM en combinación con hidrocortisona* actúa en prurito*, el cual acompaña frecuentemente a las dermatofitosis y a las infecciones por levadura. La mejoría sintomática se muestra antes de que se observen los primeros signos de cicatrización. Sin embargo, el tratamiento con hidrocortisona* es sintomático y las lesiones pueden declararse nuevamente después de discontinuar el tratamiento.^{77, 106, 111, 116, 136-138}

1.3.3.2 Farmacocinética y Farmacodinamica en Humanos.

Absorción.

El NM penetra con facilidad al estrato córneo de la piel y persiste allí durante 4 días después de su aplicación, se absorbe menos del 1% a nivel sistémico después de la aplicación tópica y el 1.3% en la aplicación vaginal.^{106, 111}

La biodisponibilidad oral es baja (25-30%), debido a la pequeña absorción del NM por el tracto intestinal. Dosis de 1000 mg en sujetos sanos produce niveles plasmáticos de 1.16 mg/ml, 2 a 4 horas después de la ingesta. Estos niveles son insuficientes para el tratamiento de micosis* sistémicas o superficiales.^{103, 106, 111, 139}

Distribución.

No esta reportado.

Mecanismo de Acción.

Es un antimicótico con espectro abierto que combina una gran actividad fungicida contra los dermatofitos, levaduras y otros asco, fico y adelomicetos, y una potente actividad bactericida contra bacilos y cocos grampositivos.^{105, 140}

La función fungistática del NM se debe a que a concentraciones bajas interactúa con el citocromo P-450 del dermatófito, lo que da como resultado una inhibición de diversos sistemas enzimáticos oxidativos evitan la incorporación de acetato en el ergosterol* el cual es un importante componente para la integridad y función de la membrana de la célula fúngica. Además inhibe la lanosteroldimetilasa. Con estas acciones se produce una desorganización y un aumento de espesor del plasmalema, asimismo la incorporación de sustancias nutritivas esenciales se encuentra disminuida.^{106, 116, 136, 141, 142}

A altas concentraciones, interactúa con los lípidos de la membrana, causando un daño directo, inhibe la síntesis de triglicéridos y fosfolípidos y la actividad enzimática oxidativa lo que causa lisis* y necrosis* celular fúngica dando como resultado su efecto fungicida.^{55, 102, 111}

Biotransformación.

La parte que se absorbe del NM es metabolizada en su mayor parte. No tiene metabolitos activos y su vida media terminal es alrededor de 20 hrs.^{111, 136}

Excreción.

Si se administró oralmente, se recupera alrededor de un 35% de la dosis (después de 48 hrs) en orina, en forma de metabolitos. Menos del 1% de la dosis administrada es encontrada sin cambios en la orina.^{103, 111, 140, 142}

1.3.3.3 Reacciones Adversas.

Por vía oral pueden ocurrir trastornos gastrointestinales como náuseas, vómito y en tratamientos a largo plazo diarrea. Se han observado reacciones

alérgicas en muy raros casos. También hay reportes aislados de hepatitis.^{111, 121, 128, 136}

Por vía tópica se han reportado casos aislados de irritación o sensación de ardor y prurito*, asociados a la aplicación de NM o a cualquier otro ingrediente de la formulación. En personas hipersensibles puede aparecer dermatitis por contacto. Estos síntomas que desaparecen al suspender el tratamiento.^{105, 111, 128, 143}

También altera las funciones de los leucocitos poliformo nucleares y la permeabilidad de membrana de éstas células.¹³⁹

1.3.3.4 Contraindicaciones.

Afecciones tuberculosas de la piel, herpes simple, viruela, varicela en todas sus formas. Disfunción hepática. Pacientes con hipersensibilidad a los imidazoles tópicos o a alguno de los componentes de la fórmula. No debe aplicarse en la conjuntiva ocular.^{111, 122, 129, 143}

1.3.3.5 Interacciones Medicamentosas y de Otro Género.

Si se administro por vía tópica, no se use simultáneamente con otro antimicótico de uso tópico, para evitar el riesgo de resistencia al fármaco.¹¹¹

Por vía oral el NM puede inhibir el metabolismo de fármacos biotransformados por el citocromo 3A y el sistema enzimático 2C9. Esto puede resultar en un incremento y/o prolongación de sus efectos, incluyendo los efectos adversos.¹¹¹ En la **tabla 6** se profundiza sobre éstas interacciones.

Tabla 6
 Interacciones farmacológicas del NM.^{105, 111, 132-134}

INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS	EFEECTO	MEDIDAS A TOMAR
Efectos antagónicos del NM con otros medicamentos:		
AB	En estudios <i>in vitro</i> se ha descrito antagonismo y nefrotoxicidad porque los imidazoles inhiben la síntesis de ergosterol*	Evitar su uso conjunto

INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS	EFEECTO	MEDIDAS A TOMAR
	mientras que los antibióticos poliénicos ejercen su acción antifúngica uniéndose a los esteroides de la membrana.	
Efectos del NM sobre la biotransformación de otros medicamentos:		
Terfenadina, astemizol y cisaprida	La biotransformación de estos medicamentos fue inhibido por el NM en estudios <i>in vitro</i>	Estos medicamentos no deben ser utilizados por pacientes tratados con NM
Hipoglucemiantes orales	Potenciación del efecto hipoglucemiante	Monitorización de la glucemia
Fenitoína	Inhibición transitoria de la biotransformación con aumento de los niveles plasmáticos y riesgo de toxicidad	Evitar excepto si es posible llevar a cabo una monitorización cuidadosa de los niveles de fenitoína
Anticoagulantes cumarínicos	Aumento del efecto anticoagulante	Monitorizar el tiempo de protrombina; ajustar la dosis en función del resultado
Hipoglucemiantes orales, ciclosporina y posiblemente tacrolimus	Incremento de sus efectos tanto terapéuticos como adversos	La dosis de estos medicamentos debe ser disminuida si es necesario.

1.3.3.6 Precauciones o Restricciones de Uso Durante el Embarazo y la Lactancia.

Se recomienda tomar precauciones durante el periodo de embarazo y lactancia. El tratamiento de superficies extensas y la aplicación bajo vendaje oclusivo deberá evitarse durante este periodo.^{103, 111}

Aunque no existe evidencia sobre la embriotoxicidad o teratogenicidad

en animales, los riesgos potenciales al prescribir estas drogas durante el embarazo deberán medirse contra los beneficios terapéuticos esperados.^{103, 111, 122}

No existe información disponible sobre la excreción en la leche humana, sin embargo deberán tomarse medidas de precaución cuando se administre durante la lactancia.¹¹¹

1.3.3.7 Precauciones y Relación con Efectos de Carcinogénesis, Mutagénesis, Teratogénesis y Sobre la Fertilidad.

Si se manifiesta irritación o sensibilidad, el tratamiento deberá discontinuarse. Como con cualquier corticosteroide tópico, se deben tomar medidas preventivas en bebés y niños, cuando se aplique en superficies muy extensas o bajo vendajes oclusivos, incluyendo pañales. De forma similar, deberá evitarse la aplicación facial.^{105, 111}

En niños, deberá evitarse la terapia* tópica corticosteroide continua de larga duración. Puede presentarse insuficiencia adrenal*, aún cuando no exista oclusión*.^{116, 121}

Algunos imidazoles son embriotóxicos* en ratas y ratones; sin embargo, no se han observado efectos adversos sobre el feto humano con la aplicación tópica (incluso vaginal) del NM.^{108, 111, 121, 144}

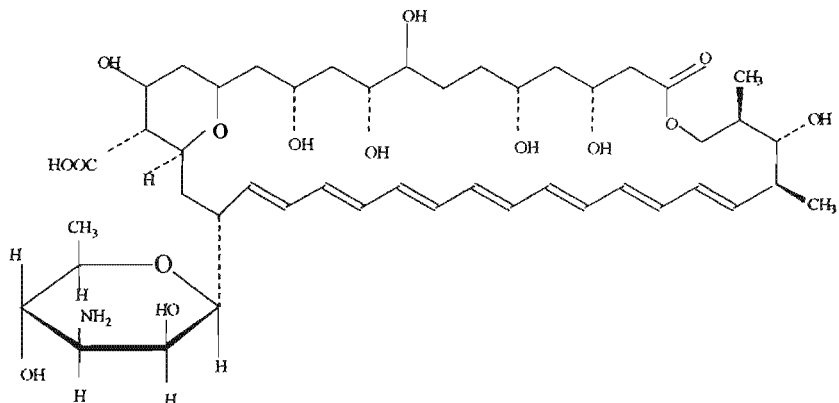
Si se piensa usar en forma concomitante* NM y anticoagulantes deberá monitorearse cuidadosamente el efecto del anticoagulante.¹⁰²

Es recomendable monitorear los niveles de NM y fenitoína si estos son usados en forma concomitante*.¹¹¹

1.3.3.8 Alteraciones de Pruebas de Laboratorio.

Ninguna conocida.¹¹¹

1.3.4 Anfotericina B.



[12633-72-6]

$C_{46}H_{71}N_1O_{15}$
PM = 537^{113, 114}

La Anfotericina B (AB) es un polieno macrocíclico¹¹¹, una sustancia antibiótica compleja producida por las especies de Streptomices, el cual tiene propiedades antibacterianas poco importantes, pero inhibe intensamente el crecimiento de varios hongos* patógenos tanto *in vivo* como *in vitro*. Los microcristales del fármaco se expenden con deoxicolato de sodio y un amortiguador para ser disuelta en solución de dextrosa. Se inyecta por vía intravenosa La AB parece ser el agente más efectivo en el tratamiento de las candidiasis*, coccidiomicosis, blastomicosis*, histoplasmosis* y criptococosis* diseminadas. Frecuentemente produce efectos tóxicos marcados, tales como fiebre, escalofríos, náuseas y vómitos e insuficiencia renal.^{20, 102, 116}

En el **anexo 2** podemos observar que de los 44 productos farmacéuticos que se encuentran actualmente en el mercado nacional, 1 contiene este principio activo, y es de administración intravenosa.^{22, 113}

1.3.4.1 Indicaciones Terapéuticas.

La AB tiene un amplio espectro con eficacia demostrada contra la mayor parte de las micosis* sistémicas principales incluso candidiasis*,

coccidioidomicosis, blastomicosis*, histoplasmosis*, esporotricosis*, aspergilosis* y mucormicosis. Su respuesta es afectada por la dosis, el régimen de administración, el sitio de la infección micótica, el estado inmunitario del paciente y por la susceptibilidad* inherente del patógeno*. La AB se emplea en combinación con flucitosina para tratar la criptococosis* o en aquellos pacientes con aspergilosis* invasiva donde los tratamientos convencionales hayan fallado.^{30, 75, 77, 108, 109, 111, 144, 145}

1.3.4.2 Farmacocinética y Farmacodinamica en Humanos.

Vía de Administración.

La AB se administra por vía intravenosa todos los días a la dosis de 50-100 mg y se puede administrar intratecalmente* a la dosis de 1 mg cada dos días en la meningitis*, o intraarticularemene en caso de ser necesario. En México únicamente tenemos 1 medicamento que lo contiene (ver **anexo 2**), el AMPHOCIL, que es un polvo liofilizado estéril para reconstituirse y para administrarse intravenosamente, compuesto a base de AB y sulfato de colesterilo, en relación de 1:1 (relación molar).^{20, 75, 111, 139}

Distribución.

El fármaco se distribuye ampliamente en tejidos, pero penetra escasamente al líquido cefalorraquídeo, articulaciones y SNC.^{105, 139}

Mecanismo de Acción.

La diferencia estructural de la membrana celular entre los hongos* y los mamíferos es la que facilita la acción de éste fármaco; la AB se une al ergosterol* de la membrana de las células micóticas, produciendo una alteración de la permeabilidad de las mismas favoreciendo la pérdida de iones y moléculas pequeñas, con lo cual puede conducir a la muerte de la célula. Sin embargo, la AB presenta una afinidad pobre hacia el colesterol, lo cual explica las reacciones adversas observadas en los mamíferos.^{30, 77, 102, 108, 109, 111, 122, 147}

Biotransformación.

No reportada.

Excreción.

La vida media de excreción es de 28.5 horas.^{103, 105, 111}

1.3.4.3 Reacciones Adversas.

Todos los pacientes presentan reacciones adversas ante la AB, aunque estas han disminuido mucho con las nuevas preparaciones lipídicas. La aparición de éstas no evita generalmente que el paciente termine el tratamiento. Se debe tener precaución cuando se utilicen dosis altas o en terapias prolongadas.

- Pueden ocurrir reacciones agudas incluyendo fiebre y escalofríos.
- Se han reportado también reacciones anafilactoides* incluyendo hipotensión*, taquicardia*, broncospasmo*, disnea*, hipoxia* e hiperventilación*.
- Puede desarrollarse insuficiencia renal durante el tratamiento con AB, debe vigilarse en especial a los pacientes que reciben un tratamiento concomitante* con medicamentos nefrotóxicos*.
- Se observaron en algunas ocasiones cambios infrecuentes en la fosfatasa alcalina y en los niveles de bilirrubina.
- Algunas veces se observaron cambios en la coagulación, trombocitopenia* e hipomagnesemia*.
- La anemia, es un evento adverso muy frecuente durante la terapia* con AB.
- Otros eventos reportados incluyeron: náusea, vómito, hipertensión, cefalea*, lumbalgia*, diarrea y dolor abdominal.^{105, 111, 121, 122, 147-150}

Estos efectos por lo general pueden aliviarse mediante administración previa o concomitante* de hidrocortisona* o acetaminofén. Se ha observado que durante el tratamiento se desarrolla tolerancia a los efectos colaterales agudos.^{121, 139, 151}

Los efectos colaterales crónicos* usualmente son resultado de la nefrotoxicidad del fármaco.^{148, 149} Durante la terapéutica con AB en la mayoría de los casos se presenta azoemia, por lo que las concentraciones de creatinina sérica y de iones deben ser estrechamente vigiladas. Con frecuencia también se observa acidosis tubular renal. Aunque la nefrotoxicidad es parcialmente reversible, puede ocurrir una reducción permanente de las funciones renales

glomerular y tubular. Este daño puede correlacionarse con la dosis total administrada.^{30, 103, 121, 128, 148, 150}

1.3.4.4 Contraindicaciones.

No debe administrarse en pacientes con hipersensibilidad confirmada a cualquiera de sus componentes, a menos que, en la opinión del médico, las ventajas de la administración superen el riesgo asociado con la hipersensibilidad. Para el tratamiento en pacientes diabéticos es necesario tomar en cuenta que cada frasco contiene monohidrato de lactosa.^{111, 148}

Para el tratamiento en pacientes con diálisis* peritoneal, debe ser administrado sólo al final de cada periodo de diálisis*. Los electrolitos séricos específicamente magnesio y potasio, deben ser vigilados en forma regular.^{103, 111, 147}

1.3.4.5 Interacciones Medicamentosas y de Otro Género.

Se debe tener precaución en pacientes que reciban terapia* concomitante* con otros medicamentos, como medicamentos nefrotóxicos* (aminoglucósidos, cisplatino y pentamidina), los corticosteroides y la hormona corticotropina (ACTH) que pueden potenciar hipocaliemia* y los glucósidos digitálicos, relajantes musculares y agentes antiarrítmicos, los cuales se pueden potenciar en la presencia de hipocaliemia*.^{108, 147}

No se ha estudiado el uso de flucitosina con AMPHOCIL. Aunque se ha informado una sinergia entre la AB y la flucitosina, la AB puede intensificar la toxicidad de la flucitosina, aumentando su captación celular e impidiendo su excreción renal.¹¹¹ En la **tabla 7** se muestran más interacciones.

1.3.4.6 Precauciones Generales.

Deberá ser administrado intravenosamente, las reacciones agudas después de la infusión pueden aparecer de la primera a la tercera hora de haber sido aplicado el medicamento, pueden ser: fiebre, escalofríos, hipotensión*, náusea o taquipnea*.¹²²

Este tipo de reacciones son comúnmente más severas después de las dosis iniciales y disminuyen con las subsecuentes aplicaciones.

Pueden ser manejadas con medicación previa a base de antihistamínicos

y corticosteroides y/o con reducción de la velocidad de la infusión.^{109, 111, 148}

Tabla 7
 Interacciones farmacológicas de la AB.^{105, 111, 132- 134, 137}

INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS	EFEECTO	MEDIDAS A TOMAR
Acetazolamida, diclorfenamida, diuréticos	Aumento de riesgo de hipopotasemia*	Monitorizar los niveles séricos de potasio
Ciclosporina	Mayor riesgo de toxicidad	Monitorización de la función renal
NM	Se ha observado antagonismo en estudios <i>in vitro</i>	
Aminoglucósidos	Incrementa el riesgo de nefrotoxicidad	
Aminoglucósidos, cisplatino y pentamidina, los corticosteroides y la ACTH	Pueden potenciar hipocaliemia*	
Flucitosina	Intensificar la toxicidad de la flucitosina, aumentando su captación celular e impidiendo su excreción renal.	
Glucósidos cardíacos	Aumento de la toxicidad cuando aparece hipopotasemia*	

* Palabras que se encuentran en el glosario

1.3.4.7 Precauciones o Restricciones de Uso Durante el Embarazo y la Lactancia.

Aunque el ingrediente activo, **AB**, se emplea desde hace muchos años sin consecuencias nocivas aparentes, no hay pruebas suficientes de la seguridad en el embarazo humano.¹¹¹

No se han realizado estudios sobre reproducción de animales; sin embargo, los estudios realizados con **AB** convencional en animales no han revelado ningún tipo de daño fetal. Si la farmacoterapia es necesaria durante el embarazo, debe usarse solamente si el beneficio esperado para la madre supera el riesgo potencial para el feto.^{121, 122}

No se sabe si se excreta en la leche humana. Debe considerarse la suspensión de la lactancia en caso de tratamiento con **AB**.¹¹¹

1.3.4.8 Precauciones y Relación con Efectos de Carcinogénesis, Mutagénesis, Teratogénesis y Sobre la Fertilidad.

Pruebas *in vitro* e *in vivo* con respecto a la inducción de mutaciones de genes y cromosómicas fueron negativas para la **AB**. No han sido conducidos estudios carcinogénéticos con **AB**. Hasta la fecha no hay evidencia clínica reportada de la carcinogenicidad asociada con el uso de la **AB**. Estudios embriofetales en ratas y conejos, a dosis de 2.5 mg/kg/día o mayores mostraron una toxicidad materna, por ejemplo, disminución de peso y pérdida del apetito. No hay evidencia de los efectos adversos en el desarrollo embriofetal con dosis hasta 10 mg/kg/día. No hay información específica del efecto de **AB** en la fertilidad humana, pero en estudios de toxicidad con dosis múltiples hasta por 13 semanas (en ratas y perros), no se presentó un efecto en la histología ovárica o testicular. La **AB** no ha sido asociada con efectos peri o postnatales.^{77, 121, 122.}

148

1.3.4.9 Alteraciones de Pruebas de Laboratorio.

- En los electrolitos séricos: hipomagnesemia*, hipocalcemia* e hipocaliemia*.
- En las pruebas de función hepática: elevación de transaminasas, bilirrubinas y fosfatasa alcalina.
- En las pruebas de función renal: elevación de la creatinina sérica.¹¹¹

1.3.4.10 Sobre dosificación o Ingesta Accidental.

En caso de sobredosis, detenga inmediatamente la administración y vigile cuidadosamente el estado clínico del paciente (funciones renal, hepática y cardíaca, estado hematológico y electrolitos séricos) e instituya un tratamiento sintomático.¹¹¹

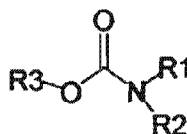
1.3.5 Carbamatos.

Los uretanos*, conocidos también como carbamatos, son compuestos orgánicos que presentan una estrecha relación funcional con los carbonatos. Su nomenclatura esta relacionada con la de los ácidos carbónicos y por lo tanto similarmente con los ésteres de éstos, cuentan con un grupo $-NH_2$, $-NHR$ ó $-NR_2$, unido a un grupo carbonilo de éster.^{152, 153}

Durante la Segunda Guerra Mundial se sintetizaron derivados del ácido carbónico resultando una serie de carbamatos heterocíclicos, aromáticos y nafílicos para su uso bélico (gases neurotóxicos), más tarde se advirtió que tenían un alto grado de toxicidad selectiva contra insectos (análoga a la fisostigmina, un alcaloide tóxico extraído de las semillas de la planta del frijol Calabar, *Physostigma venenosum*), siendo además inhibidores reversibles de colinesterasa.¹⁵³⁻¹⁵⁵

Aunque algunos se han obtenido de fuentes naturales (como las bleomicinas y las mitomicinas, que se obtienen del actinomiceto *Streptomyces verticillus* y *Streptomyces caespitosus*, respectivamente).^{156, 157}

La estructura básica de los carbamatos es la siguiente, donde R1, R2 y R3, pueden ser un alquilo o un arilo:¹¹⁰



La síntesis de los carbamatos puede realizarse a partir de los siguientes compuestos:

- Isocianatos
- Aminas
- Amidas
- Nitrilos, nitrenos, nitroaromáticos y cuprolitiados
- Haluros de alquilo
- Alcoholes y cloroformatos
- Carbonato de metilo o dietilo y aminas aromáticas.¹⁵³

Siendo el más simple de ellos el ácido carbámico. Cuando los Carbamatos se polimerizan producen compuestos conocidos como poliuretanos*, los cuales son utilizados ampliamente en diferentes áreas.^{152, 156}

El grupo de los carbamatos correspondientes en su mayor parte a derivados del ácido N-metil-carbámico; son de fácil acción sistémica, su forma de acción es similar a los organofosforados, su persistencia en el ambiente y su toxicidad es menor que la de éstos. De acuerdo a su composición, algunos derivados tienen propiedades insecticidas, fungicidas o herbicidas,¹¹⁰ aunque como se muestra en la **tabla 8**, sus usos son muy variados.

Tabla 8
 Algunos usos de los carbamatos ^{153, 154, 158}

ÁREA	USOS
Medicina	Relajante muscular, hipnótico, sedante, ansiolítico, tranquilizante, anestésico local, anticonvulsionante, tratamiento del mal de Parkinson, anticarcinogénico, antiulceroso, antimicobiano, antihelmíntico, aparatos ortopédicos, injertos arteriales, hemoaglutinante, compuestos hemocompatibles, antitrombogénico, corazón artificial, protector de piel, sustituto de piel temporal, piel sintética.
Cosmética	Deodorizantes.
Agrícola	Insecticida, herbicida, nematocida, rodenticida, fungicida.
Industria	Preservativo de pinturas, pinturas para autos, accesorios para autos, cristales de seguridad, mezcla para bloque, pegamento para lozeta vinílica, tuberías, salas, sillas, colchones, cuerdas, zapatos, telas e hilos.
Navegación	Recubrimiento de barcos y submarinos, elementos de flotación, velero, boyas.
Investigación	Inhibidores de proteasa, colinesterasa y belastasa.

La ruta metabólica de los carbamatos es básicamente la misma en plantas, insectos y mamíferos.¹⁵⁴

* Palabras que se encuentran en el glosario

1.3.5.1 Farmacocinética y Farmacodinámica.

Absorción.

Al ser utilizados como insecticida o fungicida para plantas, ingresan a través de la piel, conjuntiva, vía respiratoria y vía digestiva; no atraviesan fácilmente barrera hematoencefálica, ello limita su toxicidad en el SNC.^{153, 154, 158}

Distribución.

En el ratón, debido a su alta lipofilicidad se distribuyen rápidamente en órganos ricos en lípidos (hígado, riñones, cerebro y músculo). No hay evidencia de su bioacumulación.^{22, 153, 154, 159}

Mecanismo de Acción.

Los carbamatos son activos inhibidores de la acetilcolinesterasa* en el sitio de la sinapsis colinérgica, reaccionando covalentemente con la enzima, estabilizándose así la acetilcolina, que refuerza y prolonga su acción.^{105, 159} pero esta inhibición es transitoria, de algunas horas solamente, produce incremento en la producción de moco y arritmia cardiaca. No se ha demostrado aún neurotoxicidad retardada hasta el presente con ningún carbamato.^{22, 94, 158} Los efectos de la intoxicación aguda con agentes anticolinesterásicos se manifiestan por medio de signos y síntomas muscarínicos y nicotínicos.¹⁶⁰

Biotransformación.

Estos compuestos no son profármacos, por lo tanto no requieren activación metabólica antes de manifestar sus propiedades farmacológicas. La vida media en rata es de 3-8 horas, mientras que en ratón es de 8 a 17 minutos.¹⁵³ La mayoría de ellos sufren hidroxilación como primer paso (lo cual no implica necesariamente la detoxificación, pero debilita la molécula y facilita su degradación), hidrólisis o conjugación en el hígado (enzimática o espontánea) produciendo: **una amina, bióxido de carbono y alcohol, examinas o fenol**, el mecanismo difiere entre los compuestos metílicos o dimetílicos.^{153, 154}

Las enzimas responsables de la biotransformación de estos compuestos incluyen esterasas y amidasas, localizadas en sangre y órganos como el cerebro, hígado, riñones y enzimas monooxigenadas, localizadas predominantemente en el hígado, aunque el mecanismo de acción que involucra a estas últimas no está claramente definido.¹⁵⁴

Excreción.

Una vez biotransformados a compuestos hidrosolubles son excretados por orina, leche, heces y vías respiratorias.^{153, 154}

1.3.5.2 Reacciones Adversas.

El grado de toxicidad varía aún dentro del mismo grupo de uretanos*, esta documentado que causan intoxicaciones agudas en el hombre y comparten el mismo mecanismo con los organofosforados, debido a que ambos inhiben a la acetilcolinesterasa*. Su toxicidad es ampliamente influenciada por el vehículo que le acompaña en la formulación y la ruta de exposición.^{154, 159, 161}

Los compuestos anticolinesterásicos de muy baja liposolubilidad en la intoxicación aguda, entre sus efectos presentan signos imputables al SNC. El amplio espectro de efectos sobre el SNC incluye confusión, ataxia, pérdida de reflejos, convulsiones generalizadas, coma, y parálisis respiratoria central.^{22, 155, 157, 159}

Los hallazgos de desmielinización de tractos del SNC y periférico, hialinización y calcificación de áreas musculares son compatibles con la neurotoxicidad retardada por compuestos organofosforados y carbamatos; la cual no es reacción neurotóxica a efectos colinérgicos agudos.^{22, 160}

1.3.5.3 Interacciones Medicamentosas.

Un estudio realizado por Ward, sugiere que la actividad de los sistemas enzimáticos involucrados en la biotransformación de estos compuestos pueden ser inhibidos por algunos fármacos como la **cimetidina**, lo cual provoca la acumulación de los uretanos* e incrementan su toxicidad.^{154, 160}

Los antidotos más utilizados son los anticolinérgicos.¹⁵⁴

Se acepta la hipótesis de que algunos pesticidas actúan como estímulo antigénico y producen reacción hiperérgica especialmente en la sustancia blanca

del SNC y/o periférico con subsecuente atrofia muscular de tipo neurogénico.¹⁶ En la intoxicación aguda y terapia crónica a alcohólicos con DTC y disulfiran, éstos fueron asociados con complicaciones neurológicas severas demostrándose que afectan el almacenamiento y liberación de la dopamina estriada, lo que se asocia con los síntomas extrapiramidales y neurotóxicos centrales por sobredosis del DTC.^{22, 25, 162}

1.3.5.4 Poliuretanos*.

Los poliuretanos* son polímeros de carbamatos (uretanos*) ampliamente utilizados en diversas industrias, como ejemplos de ello tenemos:

- Tuberías para líquidos, gases y sólidos,
- Colchones,
- Salas,
- Sillas,
- Zapatos,
- Recubrimiento de barcos, submarinos, yates y veleros,
- Empaque,
- Cuerdas,
- Recubrimientos para objetos frágiles,
- Accesorios para autos,
- Pinturas,
- Cristales de seguridad,
- Hilos, telas,
- Insecticidas,
- Compuestos hemocompatibles y hemoaglutinantes,
- Substituto de piel temporal, piel sintética, protector de piel,
- Antitrombogénico,
- Injertos arteriales,
- Aparatos ortopédicos,
- Corazón artificial,
- Antimicrobianos y Absorbentes.¹⁵²

1.4 ALGUNOS MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE ANTIFÚNGICOS.

1.4.1 Sensititre Yeast One®

El sistema Sensititre® Yeast One se basa en una técnica de microdilución en medio líquido RPMI 1640 con glucosa que contiene un indicador de pH (azul Alamar®) que permite determinar la sensibilidad *in vitro* de forma cuantitativa y por medio de un cambio colorimétrico a cinco antifúngicos (AB, FLU, ITR, KET y 5FC). Es un método poco laborioso, estandarizado con un gran paralelismo con respecto al método descrito en el documento M27-A del NCCLS en referencia a una gran mayoría de variables experimentales.¹⁶³⁻¹⁶⁷ En la práctica, puede ser utilizado para la determinación de la sensibilidad tanto de levaduras como de hongos filamentosos. No obstante para estos últimos, tanto por las sustancias incluidas como por la utilidad crítica de los resultados propia de este tipo de hongos, hace poco útil su uso de forma rutinaria e indiscriminada. La laboriosa preparación de las diluciones de los fármacos y del inóculo características del método de referencia M27-A para levaduras¹⁶³ y M38-P para hongos filamentosos,¹⁶⁸ está automatizada en Sensititre® Yeast One, por lo que se eliminan algunas limitaciones.^{164-167, 169, 170} Las distintas concentraciones de antifúngico (diluciones dobles seriadas) usadas en la placa de forma individual para un solo aislamiento, vienen ya preparadas en la placa de forma deshidratada.

Una de las características más importantes de Sensititre® Yeast One radica en la posibilidad de incorporar nuevos antifúngicos, a diferencia de otros sistemas mucho más rígidos, en la medida que sustancias como voriconazol, posaconazol, ravuconazol, caspofungina e incluso los carbamatos analizados en el presente trabajo, vayan siendo introducidos en la clínica. La adición posterior del medio de cultivo en el que ya figura la suspensión de inóculo, permite la disolución de la concentración final de antifúngico correspondiente y del indicador de pH. El inóculo se ajusta turbidimétricamente y el tamaño empleado del mismo coincide con el del documento M27-A. La lectura de los resultados, es decir la determinación de las CMI's, se realiza observando la variación de color del azul de Alamar® que está asociado al desarrollo del inóculo, permite la determinación de manera más clara de los puntos de corte,

en comparación con la turbidimétrica.^{164-166, 171, 172} Las concentraciones de antifúngico también coinciden con las utilizadas con el método de referencia y los puntos de corte para **AB**, **FLU** y **5FC** son también los mismos, aunque en este caso esos mismos criterios se generalizan para otros géneros de levaduras y de distintas procedencias.

La concordancia^{164, 165, 173} entre Sensititre Yeast One® y el método de referencia M27-A en su versión de microdilución,¹⁶³ oscila según Messer y Pfaller,¹⁷¹ entre el 83% para los resultados obtenidos con **ITR** y el 93% para los de la **5FC**. Resultados similares han sido obtenidos por Arikan *et al.*¹⁷² para la **AB** y el **FLU**, así como también por Posteraro *et al.*¹⁷⁴ Sin embargo la concordancia entre ambos métodos está influenciada por algunas variables experimentales entre las que está el tiempo de incubación, que afecta de modo distinto los diferentes géneros y especies de levaduras. Así, según Espinel-Ingroff,¹⁷⁵ la concordancia entre ambos métodos, para *Candida albicans* era mayor a las 24 h de incubación y oscilaba entre el 97% para la **AB** y el 87% para **FLU**, mientras que para otras especies de *Candida* los valores llegaban a incrementarse hasta el 97-100% en el resto de antifúngicos.

Datos obtenidos por Carrillo *et al.*¹⁷⁶ con aislamientos clínicos de *Candida* spp. y *Cryptococcus* spp. Apuntan valores de correlación entre este Sensititre® Yeast One y método de referencia, del 83% para **KET**, 84% para **ITR**, 94% para **FLU**, 97% para **5FC** y 100% para **AB**. Estos valores corresponden las concordancias totales con un máximo de dos diluciones de diferencia entre ambos métodos para leva concordancia entre los resultados obtenidos para levaduras con Sensititre® Yeast One y otras técnicas comercializadas, como el método de difusión de disco, ha sido completa para **FLU** (100%) cuando las cepas se clasificaban en las categorías de sensibles, resistentes o de sensibilidad intermedia (dependiente de la dosis, SDD).

Únicamente se observó una discrepancia menor con **ITR**, dos con **AB** y cuatro con **KET**. En estos datos, se ha podido observar la dependencia existente entre la correlación y el tiempo de incubación así como también del género y especie comparada. Con respecto a otras técnicas, la concordancia se considera aceptable (>85%) al compararse Sensititre® Yeast One y E-test® para los antifúngicos **AB** y **FLU**.^{171,177}

La utilización del medio de cultivo RPMI 1640 tamponado con MOPS (pH 7), es un punto en común con el método de referencia,¹⁶³ aunque la adición de glucosa en Sensititre® Yeast One constituye una diferencia que facilita un menor tiempo de incubación y también la lectura.^{175, 178-180} Sin embargo,

Carrillo *et al.*¹⁷⁶ afirman que la adición de glucosa al medio de cultivo, no parece ser adecuada para poner en evidencia las resistencias *in vitro* a la AB.¹⁸¹ No obstante, la aparición de resistencias clínicas a AB es tradicionalmente baja en levaduras y su observación *in vitro* debe poder estar asociada a un fracaso terapéutico para considerarse como una resistencia real,^{182, 183} por lo que la modificación del medio de cultivo no puede suponer más ventajas que problemas. En esta línea, sugieren el uso de alternativas como la del Antibiotic Médium 3 que permite discriminar las resistencias que son obtenidas en medio RPMI 1640, siendo ésta una modificación hecha al documento M27-A¹⁶³ que tiene una utilidad totalmente establecida. La resistencia a FLU, ITR y KET es más común y se asocia al empleo generalizado de derivados azólicos en el tratamiento de las candidiasis orofaríngeas en este grupo de pacientes que parece propiciar la aparición de resistencias y fracasos terapéuticos^{180, 184} o bien frente a *Candida glabrata* y *Candida krusei*. Este dato reafirma la necesidad de llevar a cabo una identificación completa de especie de los aislamientos de levaduras con significancia clínica, porque permite la instauración de un tratamiento empírico antifúngico bien orientado hasta disponer de los resultados de sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos del aislamiento.¹⁶⁴

1.4.2 ASTY colorimetric panel®

ASTY colorimetric panel es un sistema de determinación de la sensibilidad en tiras de pocillos que contienen previamente deshidratadas las concentraciones de antifúngico a ensayar. Cuatro son los antifúngicos de trabajo (AB, 5FC, FLU e ITR), en rangos de concentración similares a los utilizados en el método de microdilución del NCCLS de referencia.

De este modo, ambos métodos son igualmente paralelos en cuanto a ejecución y únicamente la presencia de un indicador colorimétrico de pH constituye una diferencia. Este indicador de color permite determinar las concentraciones mínimas inhibitorias de los antifúngicos cuando se produce el viraje de color de azul, sin crecimiento a púrpura con inhibición del crecimiento y rojo cuando se ha desarrollado el inóculo. El sistema permite la incorporación de los nuevos antifúngicos en la medida que estos estén disponibles.

En la valoración del método hecha por Pfaller *et al.*¹⁸⁵ con cepas de colección de control de calidad del NCCLS, se obtuvo una excelente correlación con respecto al método de referencia. Los valores dependieron del antifúngico y únicamente para ITR los resultados fueron una dilución mayor

con respecto al método de referencia, siendo la correlación entre ambos del 95% para la *C. parapsilosis* ATCC 22019 y del 100% para la *C. krusei* ATCC 6258. La reproducibilidad del método estudiada con cepas de referencia¹⁸⁵ dependió del periodo de incubación oscilando entre el 77% y el 99% de las CMI leídas a 24 h que estaban dentro del rango de tres CMI. Ese porcentaje pasaba al 83%-100% a las 48 h de incubación en cada cepa estudiada. Para las cepas de origen clínico evaluadas, la comparación entre el sistema ASTY y el de referencia para los cuatro antifúngicos fue del 93% con CMIs de ASTY a 24 h y del 96% con CMIs de ASTY a 48 h. Al igual que con las cepas de referencia la valoración del método depende del antifúngico empleado y el periodo de incubación siendo mejor a las 48 h,¹⁸⁵ ya que para ITR el acuerdo entre este método y el de referencia es del 90% a 24h y 92% a 48h; para la 5FC es del 90% y 99% a 24h y 48 h respectivamente y para la AB del 96% y 99% en los mismos tiempos de incubación.¹⁸⁵ Para FLU el acuerdo fue del 94% a 24 h y del 95% a 48 h de incubación.¹⁸⁵ Al igual que en resto de métodos comercializados, la concordancia también parece depender del género y de la especie de levadura. En todos los casos las discrepancias se atribuyeron a la presencia de bajas CMI o fuera del rango inferior de concentración de antifúngico obtenidas mediante el sistema ASTY.¹⁸⁵

1.4.3 **Fungitest®**

El sistema Fungitest consiste en una galería con pocillos que incorporan concentraciones discriminantes para conocer la sensibilidad a AB, FLU, ITR, KET 5FC y miconazol. Los pocillos se inoculan con suspensiones de 103 UFC/ml. El método utiliza RPMI 1640 como medio de cultivo pero la determinación de la sensibilidad, a diferencia del anterior y del método de referencia, es cualitativa no cuantitativa. Además, los criterios utilizados para la clasificación difieren de los establecidos por el NCCLS para las levaduras, puesto que para la AB se emplean 2 y 8 µg/ml; para 5FC 2 y 32 µg/ml; para FLU 8 y 64 µg/ml; 0,5 y 4 para ITR y KET; 0,5 y 8 µg/ml para miconazol.^{186, 187}

Los resultados obtenidos por Davey *et al.*¹⁸⁶ de forma comparativa con el método de microdilución en medio líquido (M27-A) presentan una concordancia total para AB con independencia de la especie ensayada y únicamente tras categorizar la sensibilidad de las cepas en sensibles, intermedias o resistentes. La concordancia global con el método de referencia

fue superior al 70% para todas las especies y superior al 75% para los cinco antifúngicos incluidos. Para FLU e ITR, esa concordancia fue del 75 y 83% respectivamente en el conjunto de cepas estudiadas,¹⁸⁶ destacando el 100% para ambas técnicas en *Candida parapsilosis* ó el 94-98% para *C. albicans*.¹⁸⁶ No existieron discrepancias mayores con elevada frecuencia (3%) y que afectaron a *C. albicans*, *C. glabrata* y *Candida tropicalis*, pero si fueron significativas las discrepancias menores. En estos casos cepas sensibles o resistentes de *C. glabrata* y *C. krusei* fueron clasificadas como intermedias o viceversa, afectando sobre el total de cepas estudiadas a un 23% para el FLU y un 16% para ITR.¹⁸⁶

Algunas de las cepas resientes a FLU (2 de 12 cepas) e ITR (2 de 10 cepas) fueron clasificadas como sensibles por medio de Fungitest®. Este mismo hecho fue corroborado por los resultados de Witthuhn *et al.*¹⁸⁷ en especial con cepas intermedias que luego fueron resistentes por medio del método de microdilución de referencia. La causa de estas divergencias podría estar en la influencia del tamaño de inóculo empleado y/o tiempo de incubación, según Davey *et al.*¹⁸⁶ aparte de los criterios de clasificación.

En la **tabla 9** podemos observar algunas de las principales similitudes y diferencias entre los métodos antes mencionados.

Puede afirmarse que los métodos colorimétricos presentan una buena reproducibilidad intra e inter-laboratorio, así como una concordancia aceptable con respecto al método de referencia del documento M27-A. No obstante, los valores de concordancia con respecto al de referencia dependen del género y especie y de los tiempos de incubación en los que se realiza la lectura y la posterior interpretación y comparación.

Tabla 9

Comparación de las distintas variables experimentales utilizadas en los distintos métodos colorimétricos para la determinación de la sensibilidad a los antifúngicos y el método de referencia NCCLS M27-A.

	NCCLS M27-A	Sensititre Yeast One	FUNGITEST	ASTY
Antifúngicos	Abierto	AMB, FLZ, ITZ, KTZ, 5FC Abierto	AMB, FLZ, ITZ, KTZ, 5FC, MCZ	AB 5FC FLU ITR Abierto
Rango de concentraciones	Referencia	NCCLS M27-A	Dos concentraciones	NCCLS M27-A
Medio Cultivo	RPMI 1640 glucosado (2%)	RPMI 1640 glucosado (2%)	RPMI 1640	RPMI 1640
pH	MOPS / 7	MOPS / 7	MOPS / 7	MOPS / 7
Inóculo (UFC/ml)	$5 \times 10^2 - 2,5 \times 10^3$	$1,5 - 8 \times 10^3$	10^3	$5 \times 10^2 - 2,5 \times 10^3$
Temperatura	35 °C	35 °C	37 °C	35 °C
Incubación	24-48 h	24-48 h	24-48 h	24-48 h
Lectura	Visual Turbidimétrica	Visual Colorimétrica	Visual Colorimétrica	Visual Colorimétrica
Interpretación	Referencia	NCCLS M27-A	Propia	NCCLS M27-A
Automatización	No / Posible	Siembra	No	Posible

El empleo de alguno de éstos métodos en el laboratorio de microbiología clínica depende de la relación coste/beneficio así como de la posible inclusión de nuevos antifúngicos en un futuro. El elevado grado de estandarización entre los distintos lotes de pruebas, supone una mejora en la calidad de los ensayos y de los resultados obtenidos a la vez que la realización de numerosas pruebas de forma simultánea favorece una reducción de coste de ensayo.¹⁷⁶

2. JUSTIFICACIÓN.

El realizar investigación farmacéutica de calidad en nuestro país implica un beneficio directo para la salud de nuestra población a mediano y largo plazo, disminución en el consumo de productos extranjeros, así como el ingreso de nuevas divisas a nuestra nación al comercializar dichos productos en Centro y Sudamérica. Como sabemos se trata de una labor ardua cuyos resultados tardarán al menos una década en dar sus primeros frutos, sin embargo el panorama de los beneficios que alcanzaremos con ello, resulta muy prometedor.

Las infecciones fúngicas han incrementado seriamente su incidencia a nivel mundial debido a cirugías, terapias inmunosupresoras, y enfermedades como Diabetes, Cancer y SIDA, aunado a esto el incremento de la resistencia de éstos patógenos oportunistas a los tratamientos utilizados hace necesaria la exploración de nuevos tratamientos que nos permitan combatir más efectivamente a estos microorganismos.¹⁸⁸

El amplio espectro de efectos adversos que presentan los fármacos antimicóticos empleados a la fecha (que varían desde cefalea y náuseas hasta daño hepático e impotencia sexual), lo prolongado de estos tratamientos (desde un par de semanas hasta años meses), y la interrupción del tratamiento prematuramente por parte de los pacientes; son otros inconvenientes que se busca disminuir y, si es posible, eliminar con estas nuevas terapias antifúngicas.

Para avanzar con mayor rapidez en este sentido, es necesario trabajar de manera conjunta tomando en cuenta los siguientes aspectos:

- Considerando la relación existente entre la estructura química de un fármaco y su actividad biológica, podemos “jugar” con compuestos conocidos realizando modificaciones en su estructura molecular variando con ello su efectividad y su toxicidad, e incluso su aplicación a distintos padecimientos.¹⁸⁹
- Realizar cadenas multidisciplinarias que cuenten con la suscripción de diversos profesionistas (investigadores, médicos, químicos, ingenieros, profesores), alumnos, autoridades, instituciones de salud y empresas; buscando alcanzar una meta en común articulando esfuerzos, trabajando cada cual en la fracción que le corresponda para lograr objetivos determinados, ya que los esfuerzos aislados rara vez consiguen un resultado satisfactorio de la magnitud de los resultados que se obtienen al trabajar en conjunto.

El presente trabajo esta orientado hacia los dos puntos antes mencionados, formando un eslabón más en la cadena de estudio de derivados del ácido carbámico que realiza un equipo multidisciplinario encabezado por el Dr. Enrique R. Angeles Anguiano y el Dr. Andrés Romero Rojas.

Actualmente existen en el mercado nacional 46 productos antimicóticos (contando las diferentes presentaciones), y se utilizan 8 principios activos distintos, de éstos, el más socorrido es el **KET** (lo contienen 23 de ellos), seguido por el **NM** (utilizado en 8 de los medicamentos); y la **AB** (que aunque sólo se encuentra en 1, es muy socorrida para el tratamiento de micosis* sistémicas)¹¹¹; estos medicamentos han presentado una eficacia satisfactoria, sin embargo, debido a sus efectos adversos como su inhibición del Citocromo P450*, daño hepático así como problemas de impotencia sexual; y a la resistencia desarrollada al fármaco por parte de los hongos* en pacientes inmunodeficientes*, a causa de lo prolongado de los tratamientos, aunado a su costo, resulta necesaria la investigación de nuevos fármacos que puedan actuar a este nivel. Con esta finalidad se han desarrollado y probado compuestos derivados del ácido carbámico en *C. albicans*, y *C. neoformans*.

En México los estudios microbiológicos en levaduras agentes de infección invasora o sistémica son limitados y la frecuencia reportada es inferior a los datos internacionales. En estudios extranjeros, realizados principalmente en países desarrollados, se relata un aumento de aislamiento de levaduras resistentes o que presentan elevadas MIC's frente a los distintos antimicóticos.

Así mismo la investigación y desarrollo de nuevos fármacos es un terreno muy poco explorado en nuestro país, a pesar de los enormes beneficios a mediano y largo plazo que esto generaría para nuestra población y nuestra economía.

El presente trabajo se ubica dentro del bagaje de las pruebas preclínicas, por tal motivo nos proponemos identificar las especies de levaduras y estudiar la sensibilidad «*in vitro*» de estos agentes aislados a partir de material clínico, utilizando la técnica de microdilución en caldo, estandarizada por la NCCLS (1997) para determinar la posible actividad farmacológica de los compuestos antes mencionados.

3. HIPÓTESIS.

Dado que los uretanos* tienen efecto antifúngico en algunos de los hongos* que atacan la producción agrícola, es posible que también presenten propiedades antimicóticas contra levaduras y mohos que atacan al hombre, si esto ocurre se podría estar en camino de encontrar alternativas a los tratamientos con los que actualmente se cuentan para este fin.

4. OBJETIVOS.

4.1 OBJETIVOS GENERALES.

Realizar estudios *in vitro* para determinar la susceptibilidad* de 2 tipos de levaduras a una línea de derivados del ácido carbámico con posible actividad farmacológica.

4.2 OBJETIVOS PARTICULARES.

1. Identificar y caracterizar las especies de levaduras *C. albicans* y *C. neoformans* provenientes de un aislamiento clínico, y de *C. albicans* ATCC 10231.
2. Mediante la técnica estandarizada por la NCCLS M-37 determinar el perfil* de sensibilidad «*in vitro*» de las levaduras a compuestos antifúngicos **KET**, **NM** y **AB** y determinar las MIC's.
3. Utilizando la misma técnica determinar la susceptibilidad* y establecer las MIC's de los microorganismos antes mencionados a derivados del ácido carbámico, para contribuir en la búsqueda de nuevas terapias antimicóticas que resulten más efectivas, menos tóxicas y/o más económicas.
4. Debido a la necesidad de encontrar terapias alternativas al tratamiento de infecciones fúngicas producidas por estos microorganismos para lograr un tratamiento más efectivo, barato y/o menos tóxico, comparar la efectividad de los fenilcarbamatos que presenten actividad biológica, con los antifúngicos antes citados.

* Palabras que se encuentran en el glosario

5. MATERIALES Y MÉTODOS.

5.1 METODOLOGÍA.

En el **anexo 3**, se puede consultar los reactivos, instrumental y equipo utilizados para la realización de la presente investigación, cabe señalar que los antimicóticos utilizados como referencia fueron 2 azoles: **Ketoconazol (KET)** y **Nitrato de Miconazol (NM)** y un polieno: la **Anfotericina B (AB)**.

También se ha utilizado la metodología estandarizada por la NCCLS M-37 de microdilución en caldo para determinar la susceptibilidad* de las levaduras a agentes antifúngicos.

Como se muestra en la **figura 3**, con la finalidad de garantizar la calidad de nuestro trabajo es importante que antes de comenzar con la experimentación, revisar el adecuado funcionamiento de los equipos a utilizar, y en caso de ser necesario ajustarlos o calibrarlos; así como realizar la identificación de los reactivos a utilizar, de su fecha de caducidad y pureza. Una vez concluido esto, se procede identificar y cultivar las cepas de microorganismos a utilizar.

Cuando las colonias de levaduras de hayan desarrollado, se procede su conservación y a evaluar la potencia de los antifúngicos de referencia y la susceptibilidad* de las levaduras a éstos (**figura 4**), se determinan las MIC's conforme a lo establecido en la NCCLS, posteriormente, se determina la susceptibilidad* de las levaduras a los nuevos compuestos, se establecen las MIC's de éstos y se comparan contra las obtenidas en los compuestos de referencia y se concluye sobre su actividad biológica *in vitro*.

Figura 3
Primer diagrama de flujo de la metodología.

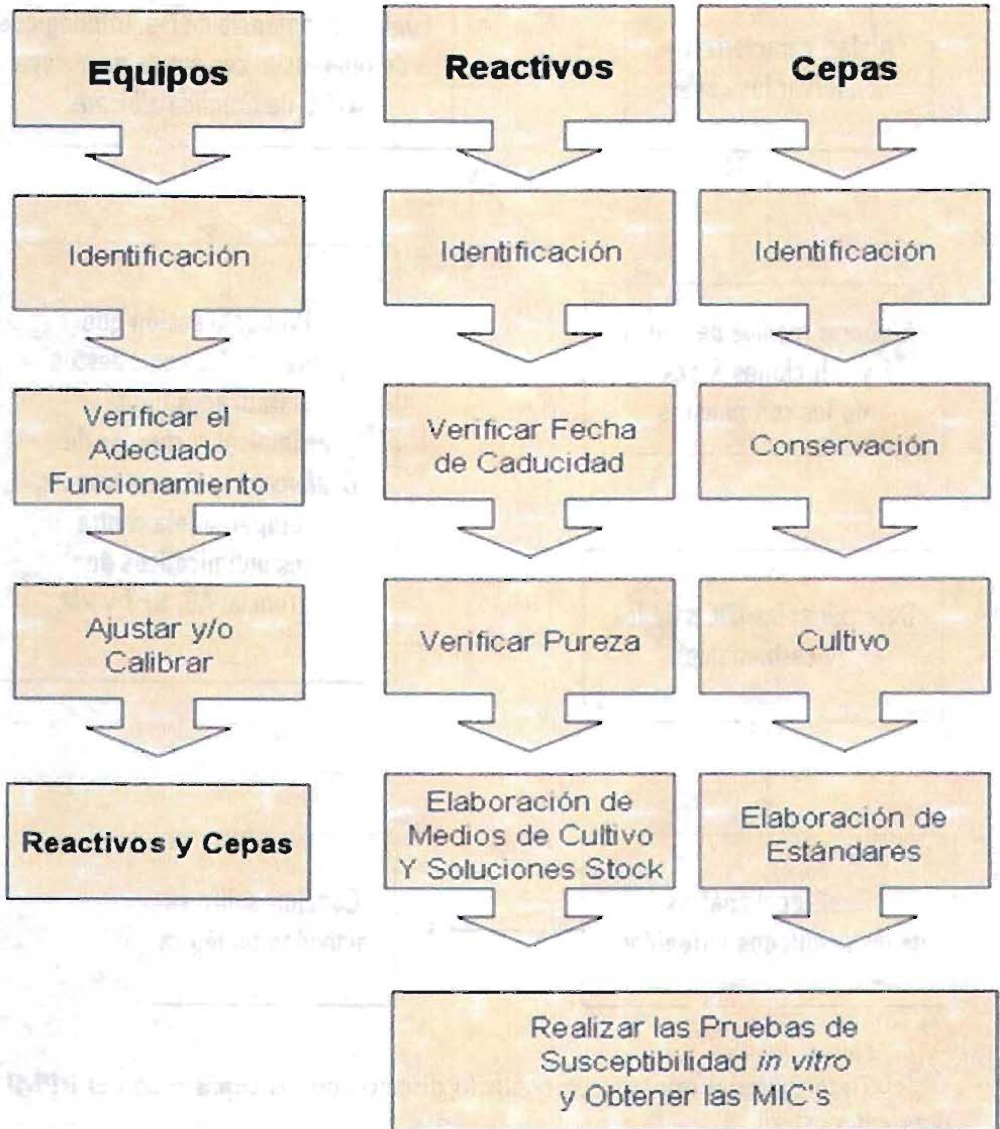
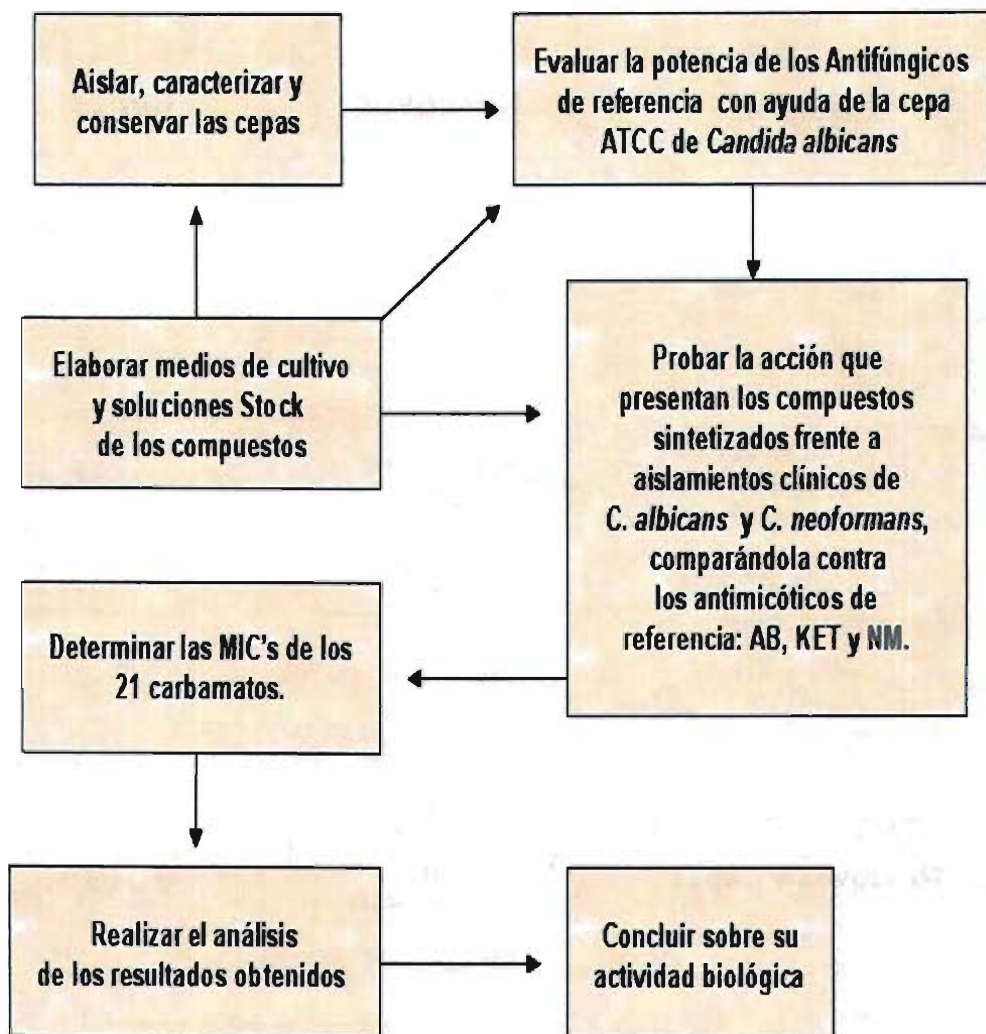


Figura 4
Segundo diagrama de flujo de la metodología.



Notas:

Todo material que este en contacto directo con las cepas o con el RPMI debe estar estéril.

Las soluciones de principio activo con DMSO se considerarán estériles, pues es imposible la vida de mico organismos en el disolvente.

5.2.1 Medios de Cultivo.

5.2.2.1 Preparación del Medio de Cultivo.

ADP.

El medio de cultivo fue preparado con base a las indicaciones de la etiqueta, colocado en tubos de cultivo y esterilizados a 121°C, 15 lb de presión por 15 minutos, después se dejan enfriar inclinados para que el agar quede en pico de flauta.

ADS y ASC.

Los medios de cultivo fueron preparados y esterilizados con base a las indicaciones de la etiqueta y colocados en cajas de petri estériles (aprox. 25 ml por caja) hasta su solidificación.

RPMI-1640.

El medio utilizado es RPMI 1640 con L-glutamina, sin bicarbonato, suplementado con 0.2% de glucosa y con rojo de fenol como indicador de pH, disuelto con agua destilada y tamponado a pH=7.0 con 0.165 M de MOPS posteriormente se esterilizó por filtración.

5.2.2.2 Prueba de Esterilidad.

Se coloca en la estufa a 37°C durante 48 hrs para comprobar su esterilidad, finalmente se almacenó a 4° C hasta su uso.

5.2.2 Levaduras.

5.2.2.1 Pruebas de Identificación de las Levaduras.

Las especies de levaduras se identifican según los procedimientos estándares empleados en Micología* Médica, analizando las características macro y micromorfológicas de cada cepa con Tinción de Gram. Las 3 levaduras se cultivaron en ASC como parte de las pruebas de identificación. Las levaduras de *C. albicans* son cultivadas durante 24 en ADS, luego se realiza la prueba de tubo germinal en 0,5 ml de plasma fresco humano siendo incubado a 37° C durante 2 horas. Las levaduras de *C. neoformans* son

* Palabras que se encuentran en el glosario

cultivadas durante 24 en ADS, luego se realiza una suspensión que es administrada intratecalmente* a 1 ratón bebé, de no más de 5 días de nacido, cuando éste fallece se extrae el cerebro, se aísla la levadura y se realiza la tinción de Tinta china en busca de la cápsula.

5.2.2.2 Conservación de las Levaduras.

A largo plazo.

1. Se rotulan 3 cajas de petri, con ADP estéril con el nombre y procedencia de la cepa que contendrán y se realiza un sembrado masivo de cada una de las cepas puras e identificadas en la caja petri correspondiente.
2. Se incuban a 37 °C, durante 24 hrs. la caja que contenga la cepa *ATCC 10231* de *C. albicans* y la caja que contenga la cepa de aislamiento clínico de *C. albicans*; y durante 48 hrs. la caja que contenga la cepa de aislamiento clínico de *C. neoformans*.
3. Utilizando material limpio y estéril, se cosecha cada una de las levaduras con SSF estéril y se realizan 4 lavados de la cosecha con dicha solución para eliminar el exceso de medio de cultivo, cuidando siempre de no contaminar la cepa.
4. Se rotulan 3 ampollitas de ensaye estéril de polímero con el nombre y procedencia de la cepa que le contendrá a cada cual, se coloca la pastilla de cada levadura en la ampollita correspondiente, se adiciona 1 ml de SSF estéril y se tapan y se conservan por criogenia a -70 °C.
5. Tiempo de conservación de la cepa: 15 a 25 años.

A mediano plazo.

1. Se rotulan 3 cajas de petri, con ADS estéril con el nombre y procedencia de la cepa que contendrán y se realiza un sembrado masivo de cada una de las cepas puras e identificadas en la caja petri correspondiente.
2. Se incuban a 37 °C, durante 24 hrs. la caja que contenga la cepa *ATCC 10231* de *C. albicans* y la caja que contenga la cepa de aislamiento clínico de *C. albicans*; y durante 48 hrs. la caja que contenga la cepa de aislamiento clínico de *C. neoformans*.
3. Utilizando material limpio y estéril, se cosecha cada una de las levaduras con SSF estéril y se realizan 4 lavados de la cosecha con dicha solución, cuidando siempre de no contaminar la cepa.
4. Se rotulan 3 tubo de cultivo con el nombre y procedencia de la cepa que le contendrá a cada cual, se coloca la pastilla de cada levadura en tubo de

* Palabras que se encuentran en el glosario

ensaye correspondiente, se adicionan 5 ml de agua estéril y se tapan con una torunda estéril de algodón envuelto en gasa.

5. Se conservan en una gradilla, guardadas en un lugar oscuro, seco y fresco
6. Tiempo de conservación de la cepa: 5 a 7 años.

A corto plazo.

1. Se utilizará una superficie de agar inclinado ADP en tubos de cultivo de 20 ml, para mantener las cepas puras y conservarlas.
2. La inoculación se hará a partir de una colonia aislada de una placa.
3. El medio se preparará de la misma forma que el de cajas petri, la única diferencia es que se servirá el medio antes de esterilizar y que este deberá tener un pico de flauta.
4. Se inoculará el tubo por estria, incubándose a 37 °C por 24 horas para las cepas de *Candida* y por 48 horas para la de *Cryptococcus*.
5. Una vez hayan crecido las levaduras, se mantendrán en refrigeración con las taparoscas ligeramente flojas, para evitar que las levaduras se asfixien.
6. Tiempo de conservación de la cepa: Varios meses.
7. Se rotulará como **Tubo 1a** al que contenga el aislamiento clínico de *C. albicans*, como **Tubo 2a** al que contenga el aislamiento clínico de *C. neoformans*, y como **Tubo 3a** al que contenga la cepa *ATCC 10231* de *C. albicans*.

5.2.2.3 Preparación de las Levaduras para su Cosecha.

1. Si los tubos estuvieron almacenados en refrigeración, se sacan y se espera a que estén a temperatura ambiente.
2. A partir del **Tubo 1a** se tomará una asada que será sembrada por método de sembrado masivo en la **Caja Petri 1a** con ADP, lo mismo se realizará con el **Tubo 2a** para la **Caja Petri 2a** y con el **Tubo 3a** para la **Caja Petri 3a**.
3. Se incubarán en las condiciones antes mencionadas.
4. Una vez que han crecido, se adicionará de 1 a 2 ml de SSF a cada caja y con un portaobjetos removerá suavemente las colonias teniendo cuidado de no raspar el agar.
5. Con una pipeta estéril transferirá el líquido con la cosecha en Tubos de vidrio estériles con rosca (**Tubo 1b, Tubo 2b, Tubo 3b**).
6. Tapar el tubo y mezclará en el vortex durante 15 segundos.

Cada cosecha será sometida a 3 lavados por centrifugación con SSF al 85%, para ello:

1. Se adicionan 3 ml de SSF a cada una.
2. Se agitan por 1 min. en Vortex y
3. Se somete los **Tubos 1b, 2b y 3b** a centrifugación por 15 min. a 2000 RPM.
4. Finalmente se retira el sobrenadante y se repiten todos los pasos, hasta haber realizado 3 lavados.

5.2.2.4 Preparación de las Sol. Stock de Levaduras.

1. Se adicionan 3 ml de SSF a la pastilla de levaduras del **Tubo 1b** y se homogenizará la solución agitando en Vortex por 1 min.
2. Se colocan 0.1 ml de esta solución y se llevan a un aforo de 5 ml con SSF (dilución 1:50).
3. Se lee la absorbancia de esta solución en un espectrofotómetro a 540 nm
4. Mediante la fórmula: $Abs = \ell * \epsilon * []$ y una regla de 3, se calcula la concentración a la que ha de ser preparada la levadura para lograr una $Abs^{540} = 0.135 \pm 0.005$ (equivalente al *0.5 del Nefelómetro de Mc Farland*), cuya cantidad de levaduras es de 1.5×10^6 por ml.
5. Se prepara dicha solución (**Tubo 1c**), y se verifica que se encuentre a la concentración deseada.
6. Se repiten los pasos con el **Tubo 2b** para obtener el **Tubo 2c** y con el **Tubo 3b** para obtener el **Tubo 3c**.
7. Estos Tubos son almacenados en refrigeración hasta su utilización.

5.2.2.5 Estandarización de UFC/ ml viables.

Para determinar el número de UFC por mililitro.

1. En esta técnica se trabajará en condiciones estériles y se debe esperar a que el tubo este a temperatura ambiente y agitar en vortex antes de utilizarlo.
2. Se toman 2 ml de SSF y se coloca en un tubo de cultivo (**Tubo 1d**) de 10 ml, se adiciona 1 ml de la sln. stock (**Tubo 1c**) medido con la misma pipeta (*dilución 1:3*, es decir 500,000 UFC/ ml). El **Tubo 1c** se conserva en refrigeración.
3. Con agitación se homogeniza el contenido del **Tubo 1d**.

4. Se toma 0.5 ml de la sln. del **Tubo 1d**, se coloca en un matraz volumétrico (**Matraz 1a**) de 10 ml, y se lleva hasta la marca de aforo con SSF (*dilución 1:20*, es decir 25,000 UFC/ml).
5. El **Tubo 1d** se conserva en refrigeración.
6. Con agitación se homogeniza el contenido del **Matraz 1a**.
7. Se toma 0.1 ml de la sln. del **Matraz 1a**, se coloca en otro matraz volumétrico (**Matraz 1b**) de 10 ml, y se lleva hasta la marca de aforo con SSF (*dilución 1:100*, es decir 250 UFC/ml).
8. Con agitación se homogeniza el contenido del **Matraz 1b**.
9. Se coloca 1 ml de SSF en una caja de ADS (**Caja Petri 1b**). Se adiciona 0.1 ml de inóculo del **Matraz 1b** (en teoría unas 25 UFC) en el centro de la SSF en la **Caja Petri 1b**.
10. Con la ayuda de una pipeta pasteur de punta cerrada y en "L", se mezcla y distribuyen el 1.1 ml de inóculo por toda la superficie del agar.
11. Se incubará a 37°C y se observará constantemente hasta la aparición de las colonias, el rango de tiempo de incubación es de aproximadamente 24 hrs. para *C. albicans* y 48 hrs. para *C. neoformans*.
12. Se cuentan las colonias y se multiplican por los factores de dilución.
(# UFC * 3 * 20 * 100 / 0.1) = UFC / ml en el **Tubo 1c** (nuestra Sln. Stock).
(# UFC * 20 * 100 / 0.1) = UFC / ml en el **Tubo 1d** (el cual será utilizado para la preparación del inóculo de los posillos).
13. Se repiten los pasos 1-12, 2 veces más y se obtiene un promedio.
14. Se repiten los pasos 1-13 con el **Tubo 2c** y con el **Tubo 3c** para conocer las UFC/ml de cada levadura.

5.2.2.6 Dilución de las Solución Stock de Levaduras.

1. Se toma 0.2 ml del **Tubo 1d**, previamente agitado y a temperatura ambiente y se coloca en un matraz volumétrico de 50 ml. Se lleva a la marca de aforo con RPMI y se homogeniza (*dilución 1:250*, es decir 2000 UFC/ml). La cual es una concentración 2x con respecto a la concentración final que tendremos de levaduras en cada pocillo al realizar el llenado de las Placas.
2. Se vierte la solución en tubos de ensaye estériles previamente rotulados (CA-ATCC 10231 para *Candida albicans* ATCC 10231, CA para *Candida*

albicans y CN para *Cryptococcus neoformans*), y se conservan en refrigeración.

3. Se repiten los pasos para el **Tubo 2d** y el **Tubo 3d**.

5.2.3 Principios Activos.

5.2.3.1 Preparación de las Diluciones.

1. Se pesará $38.4 \text{ mg} \pm 0.4 \text{ mg}$ del antifúngico o carbamato en una balanza analítica, y se le disolverá en 3 ml de dimetilsulfóxido (DMSO).
2. A partir de ésta solución se realizarán 9 diluciones más con DMSO de acuerdo a la **figura 5**. Estas diluciones se encuentran 100 veces más concentradas que la dilución final.
3. Se toman 20 μl de cada solución, y se diluyen con 980 μl de RPMI de acuerdo a la **figura 6**; de esta forma se obtendrá una concentración 2 veces mayor a la final. Una vez que la solución se haya adicionado a la placa junto con la levadura, la concentración final de antifúngico en cada pocillo, será la que requerimos para el estudio.
4. Se preparará un **blanco** con 20 μl de DMSO diluidos con 980 μl de RPMI.

Figura 5
Preparación de las distintas diluciones de los antifúngicos
y carbamatos con DMSO.

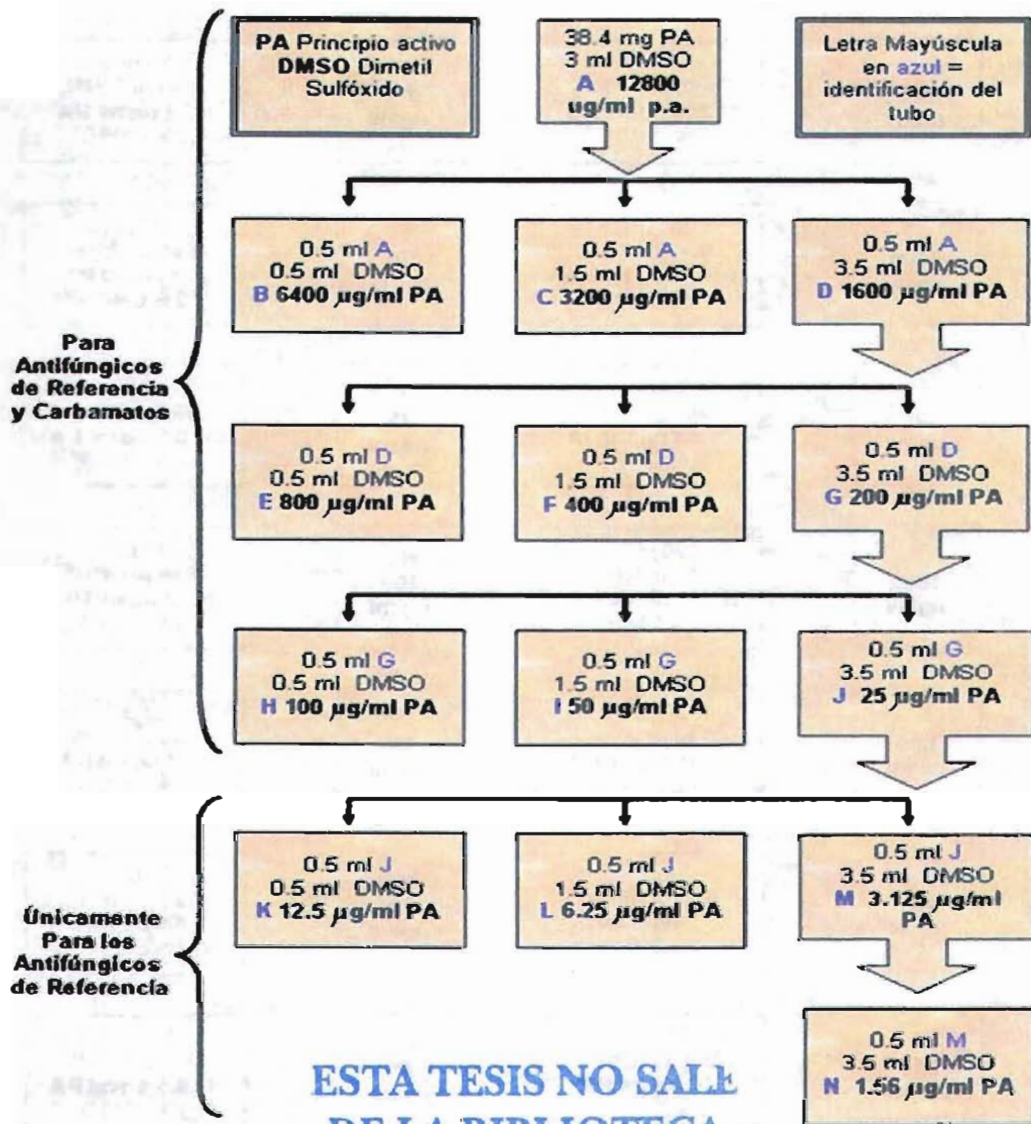


Figura 6

Dilución de las soluciones anteriores de antifúngicos y carbamatos con RPMI para adicionarlos a los pocillos de las microplacas.

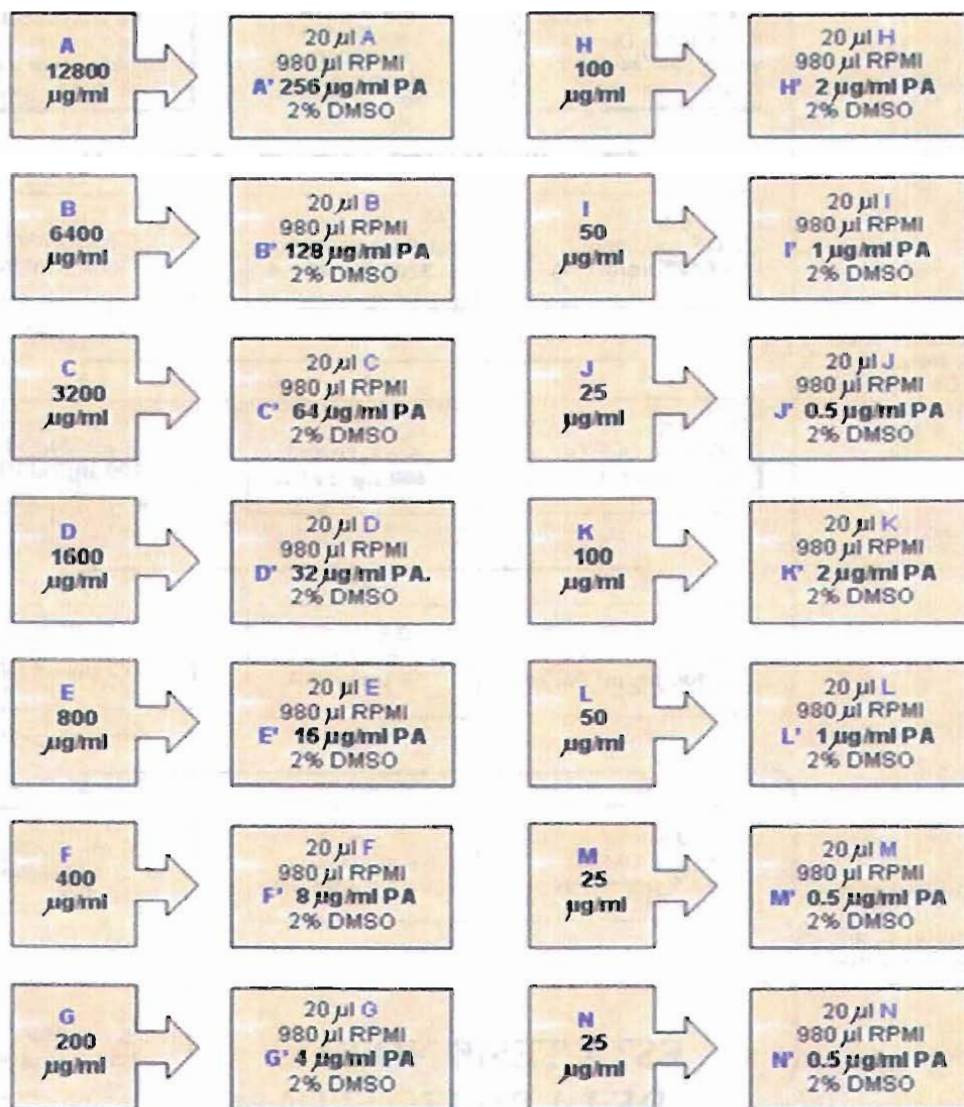
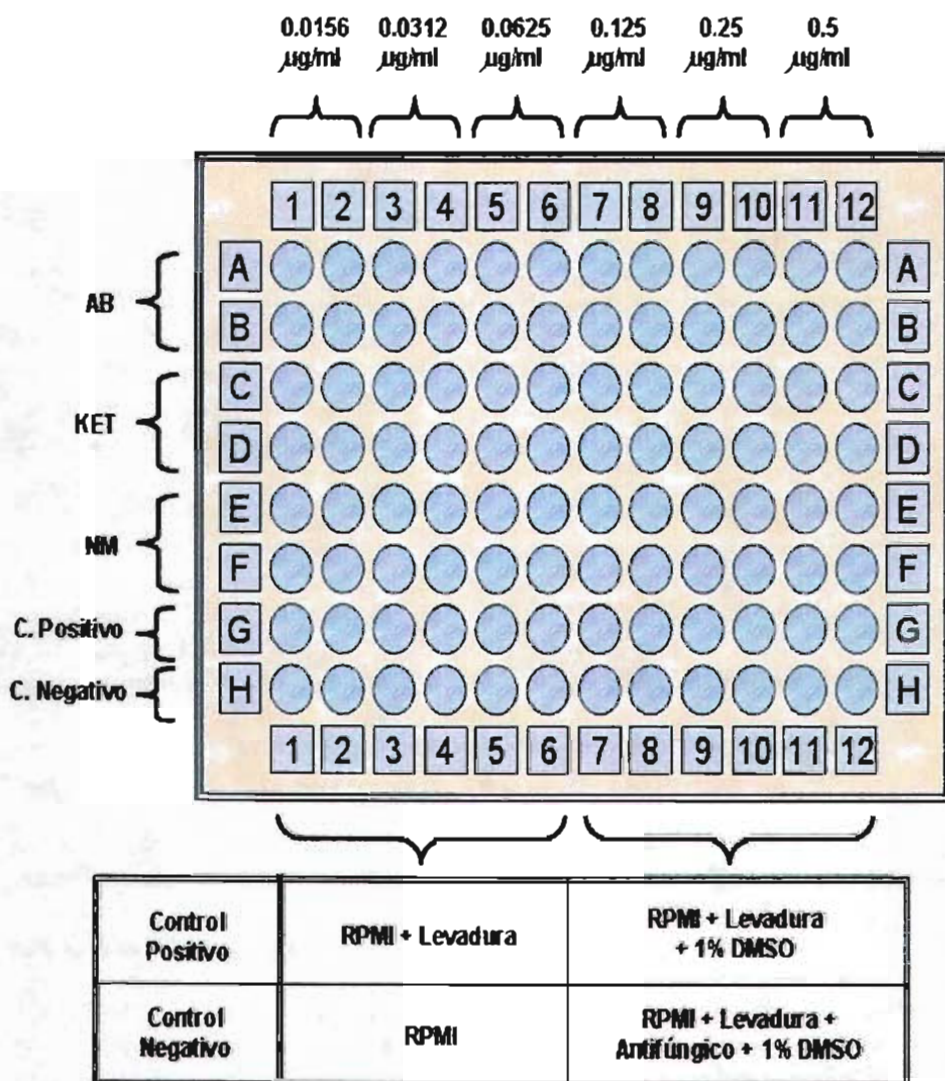


Figura 7

Llenado de los pocillos de las microplacas para probar la susceptibilidad de las levaduras a los antifúngicos, disueltos en RPMI



5.2.4 Llenado de Placas.

5.2.4.1 Inoculación de la Microplaca para Determinar las MIC's de los Antifúngicos de Referencia.

1. Se realiza primero la determinación de susceptibilidad* de las 3 cepas a los 3 antifúngicos de referencia, de acuerdo al **figura 7**.
2. Trabajándose en condiciones estrictamente estériles. Se tomará 0.1 ml de cada dilución de principio activo, con una micro pipeta y diferente puntilla previamente estéril.
3. Se colocará en cada uno de los pocillos en forma ascendente (de la menor a la mayor concentración) en las filas A y B la **AB**, en las filas C y D el **KET** y en las filas E y F el **NM**.
4. En las filas G y H se agregan los controles positivos y negativos de acuerdo a lo mostrado en el **figura 7**.
5. En los pocillos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 de las filas G y H, se les adicionará únicamente 0.1 ml de RPMI estéril.
6. Al finalizar de colocar las diluciones de principio activo, se procede a colocar 0.1 ml del inóculo previamente estandarizado y disuelto en RPMI (**dilución 1:50**, es decir 30000 UFC/ ml), lo cual nos deja una dilución final aproximada de las levaduras de 15000 UFC/ml. **Excepto** en los pocillos 1, 2, 3, 4, 5 y 6 de la fila H, a los cuales se les adicionará 0.1 ml más de RPMI estéril.
7. Finalmente se tapaná la microplaca y se incubara a 35 °C verificando el crecimiento constante hasta que se observe considerablemente la diferencia en la turbidez (48 hrs para *C. albicans* y 72 hrs. para *C. neoformans*).

5.2.4.2 Inoculación en Microplaca para Determinar las MIC's de los Carbamatos.

1. Trabajándose en condiciones estrictamente estériles y de acuerdo al **figura 8**. Se tomará 0.1 ml de cada dilución de principio activo, con una micro pipeta y diferente puntilla.
2. Se colocará en cada uno de los pocillos en forma ascendente (de la menor a la mayor concentración).
3. Para los controles positivos, en los pocillos de la columna I: A, B, C y D, se colocarán 0.1 ml de RPMI **sin** DMSO. Para los pocillos E, F, G y H de

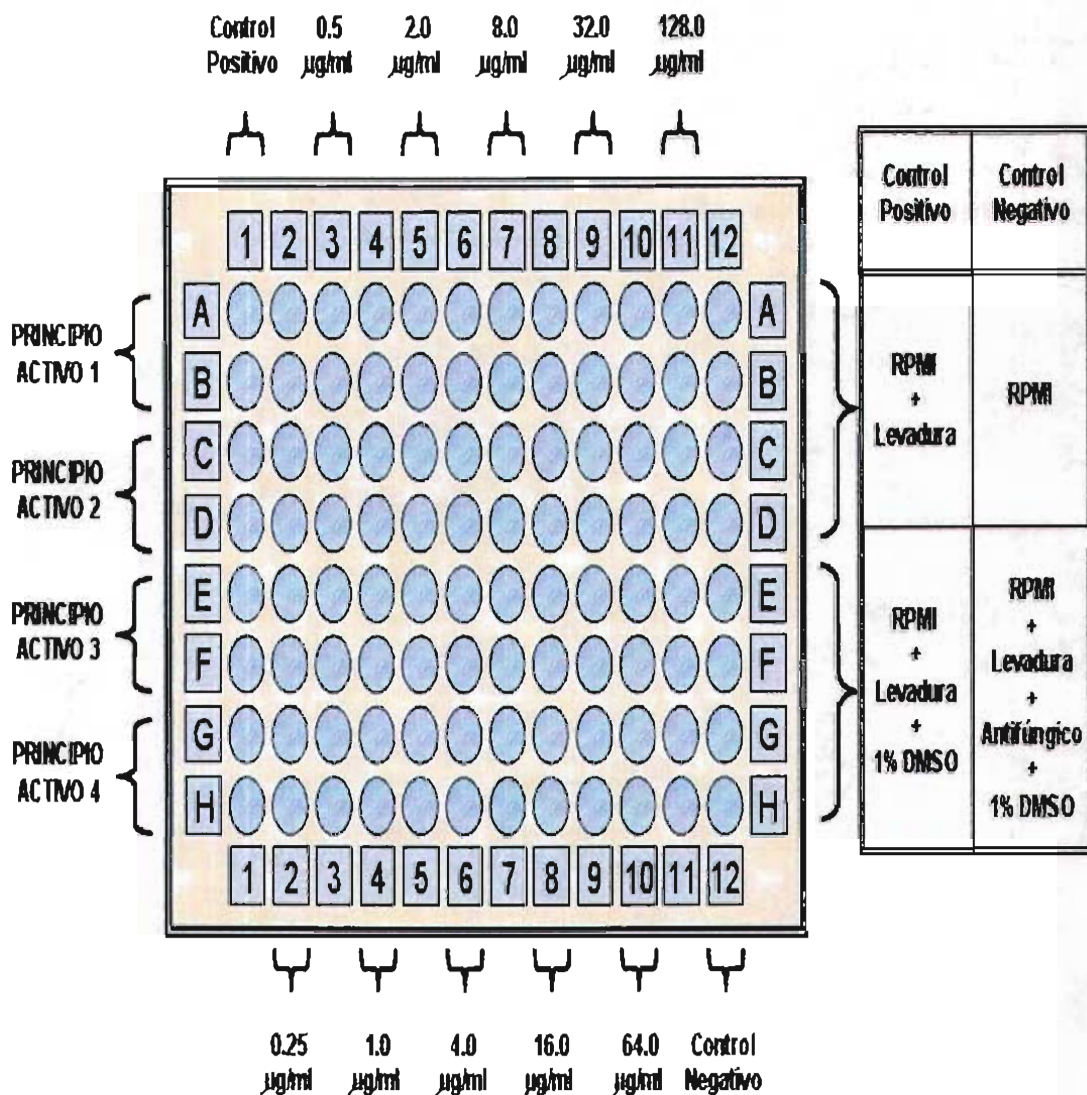
la misma columna, se colocarán 0.1 ml de la solución blanco de RPMI con DMSO (blanco).

4. Para el control negativo en los pocillos A, B, C y D de la columna 12, se colocarán 0.2 ml de RPMI estéril sin DMSO. Para los pocillos E, F, G y H de la misma columna, se colocarán 0.1 ml de la solución del AF de referencia (**AB**) disuelto con DMSO en RPMI.
5. Al finalizar de colocar las diluciones de principio activo, se procede a colocar 0.1 ml del inóculo previamente estandarizado y disuelto en RPMI *Excepto* en los pocillos A, B, C y D de la columna 12, a los cuales no se les adicionará levadura.
6. Finalmente se tapará la microplaca y se incubará a 37 °C verificando el crecimiento constante hasta que se observe considerablemente la diferencia en la turbidez (48 hrs para *C. albicans* y 72 hrs. para *C. neoformans*).
7. Para aquellos carbamatos que presenten efecto AF, se realizarán las pruebas por sextuplicado de acuerdo al **figura 9**.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

Figura 8

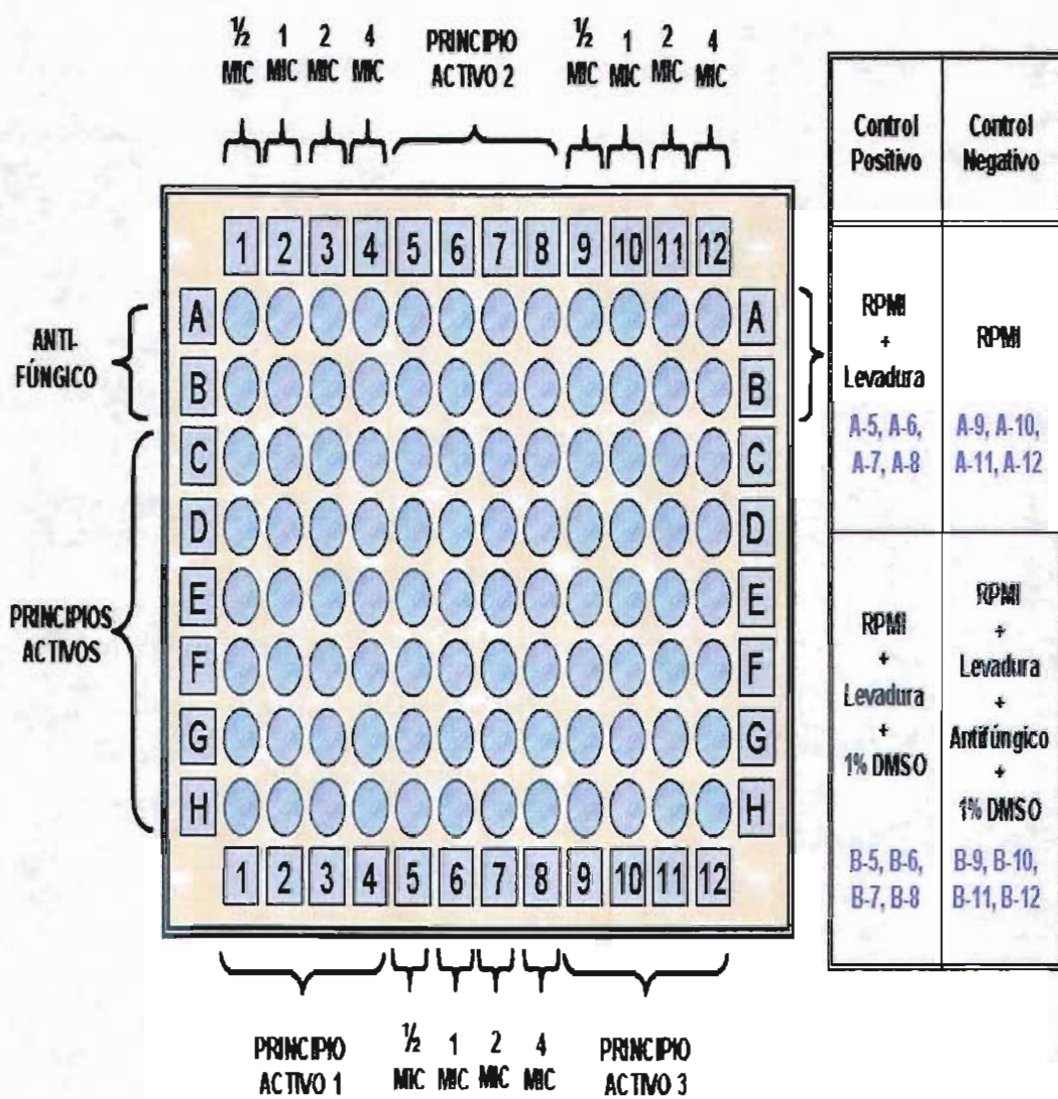
Llenado de los pocillos de las microplacas con los antifúngicos,
carbamatos y levaduras disueltos en RPMI.



* Palabras que se encuentran en el glosario

Figura 9

Llenado de los pocillos de las microplacas por sextuplicado para los carbamatos que presentaron actividad contra *C. albicans* y *C. neoformans*.



* Palabras que se encuentran en el glosario

5.2.5 Lectura y Susceptibilidad.

5.2.5.1 Criterio de Lectura.

La menor concentración capaz de inhibir el 80 % del crecimiento del microorganismo, es identificada como la MIC para cada azólico. La ausencia total de crecimiento en la menor concentración de AB, será considerada MIC para este fármaco. La susceptibilidad* de las cepas frente a cada fármaco fue clasificada como sensible (S), sensibilidad dosis dependiente (SDD) y resistente (R), según los criterios establecidos por NCCLS, M-27, 1997.

Con respecto los controles positivos se evalúa la efectividad de los AF de referencia y de los fenilcarbamatos de la siguiente manera:

- 4- No hay reducción de crecimiento.
- 3- Ligero reducción del crecimiento.
- 2- Prominente reducción del crecimiento.
- 1- Ligero crecimiento.
- 0- No hay crecimiento.

5.2.5.2 Criterios de Susceptibilidad.

Como sabemos, los criterios de susceptibilidad* varían de acuerdo al método de determinación de sensibilidad *in vitro* utilizado, para el caso que nos compete los criterios de susceptibilidad* son mostrados en la **tabla 10**. Se considera una cepa: Sensible (S) si presenta la inhibición del 80% para azoles y 100% para AB a la concentración mínima indicada o menos, Resistente (R) si su MIC es a una concentración mayor a la indicada en la tabla, y Sensibilidad Dosis Dependiente (SDD), cuando presenta MIC entre ambos rangos, traduciéndose en la posibilidad de tratamiento con el antimicótico, pero en dosis elevadas.¹⁰

5.2.6 Controles de Calidad.

Microorganismos

Se realizarán las pruebas de identificación a las 3 cepas trabajadas:

- Cepa ATCC 10231 de *Candida albicans*.
- Aislamiento clínico de *Candida albicans*.
- Aislamiento clínico de *Cryptococcus neoformans*.

Tabla 10
Criterios de susceptibilidad* de las levaduras frente a las drogas
antifúngicas.¹⁹⁰

LEV	AF	AB µg/ml	KET µg/ml	NM µg/ml	SFC µg/ml	FLU µg/ml	ITR µg/ml
<i>C. albicans</i>		0.25-2	<0.03-8	<0.03-4	<0.12- >64	<0.25- 32	<0.03-4
<i>C. glabrata</i>		0.5-2	0.03-1	<0.03- 0.125	<0.125	2-128	0.125-2
<i>C. krusei</i>		1-2	0.125-2	0.25-2	4-32	16-128	0.25-2
<i>C. lusitaniae</i>		0.25-2	<0.03- 0.5	<0.03-4	<0.125- 64	0.25-64	0.06-1
<i>C. parapsilosis</i>		0.5-1	<0.03- 0.25	0.06-1	<0.125	0.5-4	0.06-0.5
<i>C. tropicalis</i>		0.5-2	<0.03- 0.125	0.03-0.5	<0.125	0.25-2	0.06-1
<i>C. neoformans</i>		0.25-2	0.03-8	0.03-1	<0.125- >64	1-32	0.03-16

Antimicóticos de referencia

Se confrontan para determinar su potencia los antifúngicos de referencia contra la cepa ATCC 10231 de *Candida albicans*.

Placas

El primer control negativo contiene únicamente el medio de cultivo RPMI, de esta forma comprobamos que el medio se encuentre libre de microorganismos.

El primer control positivo tiene la levadura disuelta en el RPMI.

El segundo control positivo lleva la levadura disuelta en el RPMI y el DMSO, esto nos permite analizar si afecta éste último el desarrollo de la levadura.

El segundo control negativo incluye la levadura disuelta en el medio de cultivo RPMI y el antimicótico de referencia disuelto en el DMSO.

Carbamatos

Se realizaron cromatografías en capa fina para confirmar la pureza de los uretanos*.

6. RESULTADOS.

Dado que la AB es fungicida la MIC es la concentración mínima a la que se inhibe totalmente el crecimiento de la levadura; sin embargo el KET y el NM son fungistáticos, así que la MIC es la concentración mínima a la cual hay un ligero crecimiento de la levadura. En la **tabla 11** se muestra la susceptibilidad* de las levaduras a los 3 antimicóticos.

En los controles positivos utilizados no hubo diferencia de crecimiento entre las levaduras en los pocillos con DMSO y las de los pocillos sin DMSO.

Con respecto los controles positivos se evaluó la efectividad de los AF de referencia y de los fenilcarbamatos de la siguiente manera:

- 4- No hay reducción de crecimiento.
- 3- Ligero reducción del crecimiento.
- 2- Prominente reducción del crecimiento.
- 1- Ligero crecimiento.
- 0- No hay crecimiento.

Obsérvese que esta cepa de aislamiento clínico de *C. albicans* presenta la misma susceptibilidad* a los carbamatos que la cepa **ATCC 10231** de *C. albicans*.

Los compuestos LQM's: 177, 211, 901, 903, 904, 908, 914, 917, 919, 933, 934, 936, 937, 938 y los compuesto HS1 y DGOA1, no inhibieron en esta levadura; como podemos observar en las **tablas 12, 13 y 14**.

Aquellos compuestos que si inhibieron el crecimiento de las levaduras LQM 667, 905, 906, 935 y 996 como se muestra en las **tablas 12, 13 y 14**.

La susceptibilidad* a los carbamatos del *C. neoformans* es muy similar a la presentada por las dos cepas de *C. albicans*.

Tabla 11

MIC's de las 3 cepas de levadura a los antifúngicos de referencia.

AF	LEV	<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>C. albicans</i>	<i>C. neoformans</i>
	AB	0.250 µg/ml	0.250 µg/ml	0.250 µg/ml
	KET	0.031 µg/ml	0.125 µg/ml	0.250 µg/ml
	NM	0.031 µg/ml	0.031 µg/ml	0.062 µg/ml

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

Tabla 12
Susceptibilidad* de la cepa *ATCC 10231* de *C. albicans* a los compuestos
probados por el método de microdilución en placa.

▲	▼	0.25 µg/ ml	0.5 µg/ ml	1 µg/ ml	2 µg/ ml	4 µg/ ml	8 µg/ ml	16 µg/ ml	32 µg/ ml	64 µg/ ml	128 µg/ ml
AB		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
KET		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
NM		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
LQM 177		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 211		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 667		4	4	4	4	4	2	2	2	2	2
LQM 901		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 903		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 904		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 905		4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
LQM 906		4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
LQM 908		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 914		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 917		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 919		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 933		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 934		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 935		4	4	4	4	4	4	4	4	0	0
LQM 936		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 937		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 938		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 996		4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
HSI		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
DGOA 1		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

▲ Compuesto probado
▼ Concentración utilizada

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
 ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

Tabla 13
 Susceptibilidad* de la cepa de aislamiento clínico de *C. albicans* a los
 compuestos probados por el método de microdilución en placa.

▲	▼	0.25 µg/ ml	0.5 µg/ ml	1 µg/ ml	2 µg/ ml	4 µg/ ml	8 µg/ ml	16 µg/ ml	32 µg/ ml	64 µg/ ml	128 µg/ ml
AB		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
KET		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
NM		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
LQM 177		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 211		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 667		4	4	4	4	4	2	2	2	2	2
LQM 901		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 903		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 904		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 905		4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
LQM 906		4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
LQM 908		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 914		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 917		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 919		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 933		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 934		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 935		4	4	4	4	4	4	4	4	0	0
LQM 936		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 937		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 938		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 996		4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
HSI		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
DGOA 1		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

▲ Compuesto probado
 ▼ Concentración utilizada

* Palabras que se encuentran en el glosario

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

Tabla 14

Susceptibilidad* de la cepa de aislamiento clínico de *C. neoformans* a los
compuestos probados por el método de microdilución en placa.

▲	▼	0.25 µg/ ml	0.5 µg/ ml	1 µg/ ml	2 µg/ ml	4 µg/ ml	8 µg/ ml	16 µg/ ml	32 µg/ ml	64 µg/ ml	128 µg/ ml
AB		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
KET		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
NM		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
LQM 177		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 211		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 667		4	4	4	4	4	2	2	2	2	2
LQM 901		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 903		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 904		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 905		4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
LQM 906		4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
LQM 908		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 914		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 917		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 919		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 933		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 934		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 935		4	4	4	4	4	4	4	4	1	0
LQM 936		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 937		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 938		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
LQM 996		4	4	4	4	4	4	4	4	4	3
HSI		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4
DGOA 1		4	4	4	4	4	4	4	4	4	4

▲ Compuesto probado
▼ Concentración utilizada

Figura 10
 Susceptibilidad* de las 3 cepas de levaduras a AB, KET y NM
 por el método de microdilución en placa.

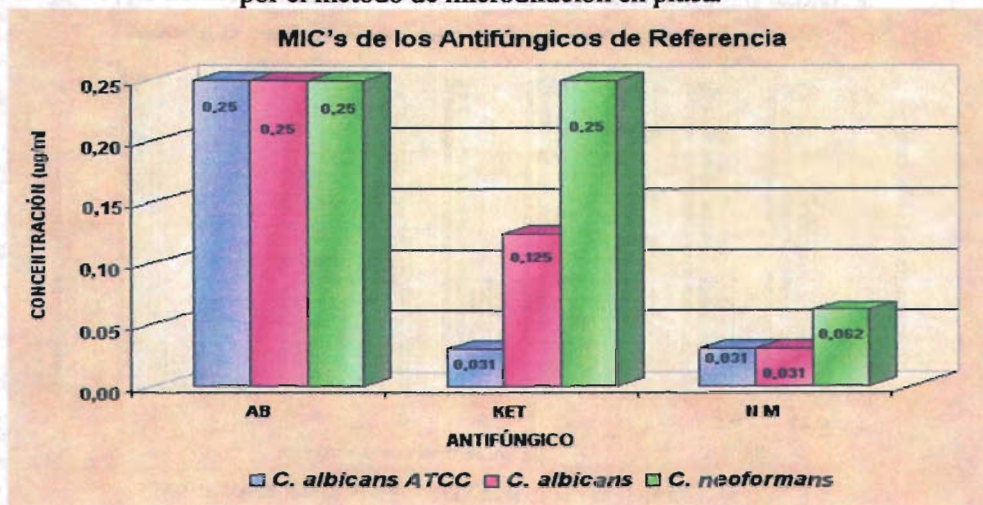
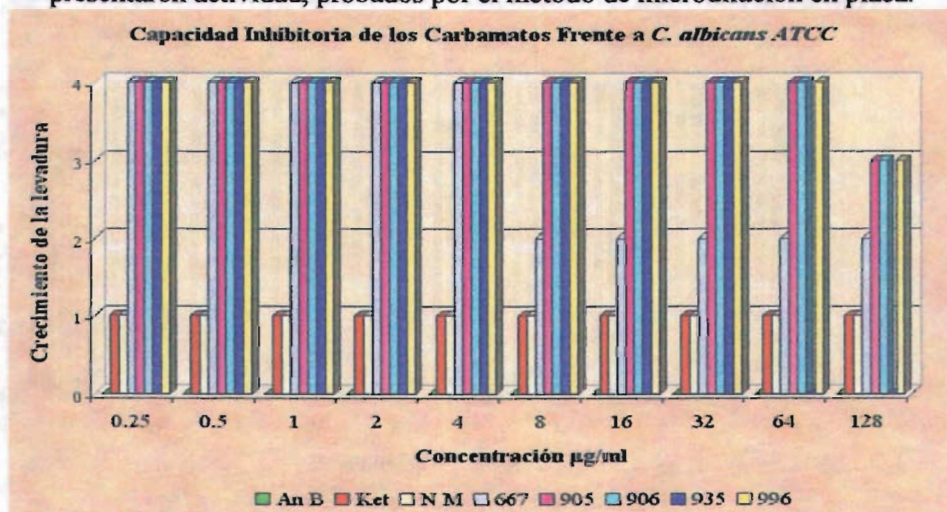


Figura 11
 Susceptibilidad* de la cepa de *C. albicans* ATCC 10231 a los compuestos que
 presentaron actividad, probados por el método de microdilución en placa.



* Palabras que se encuentran en el glosario

Figura 12

Susceptibilidad* de la cepa de *C. albicans* a los compuestos que presentaron actividad biológica, probados por el método de microdilución en placa.

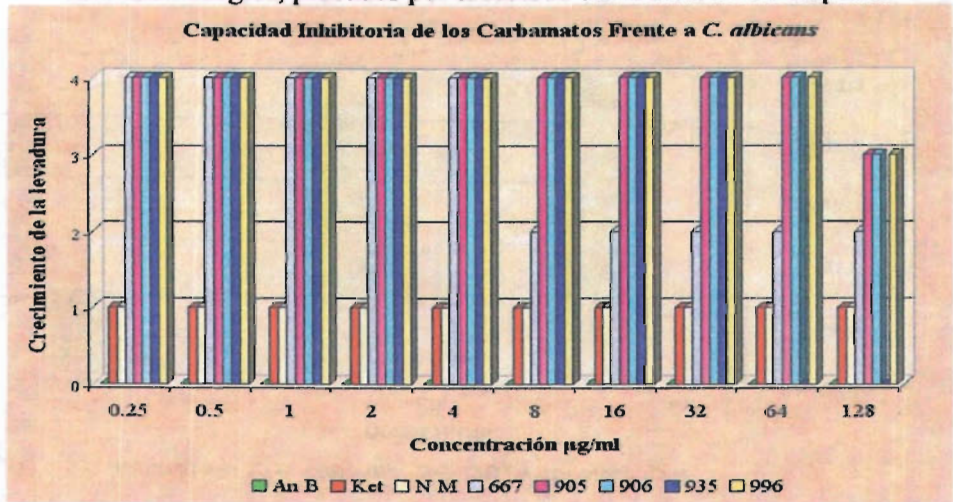
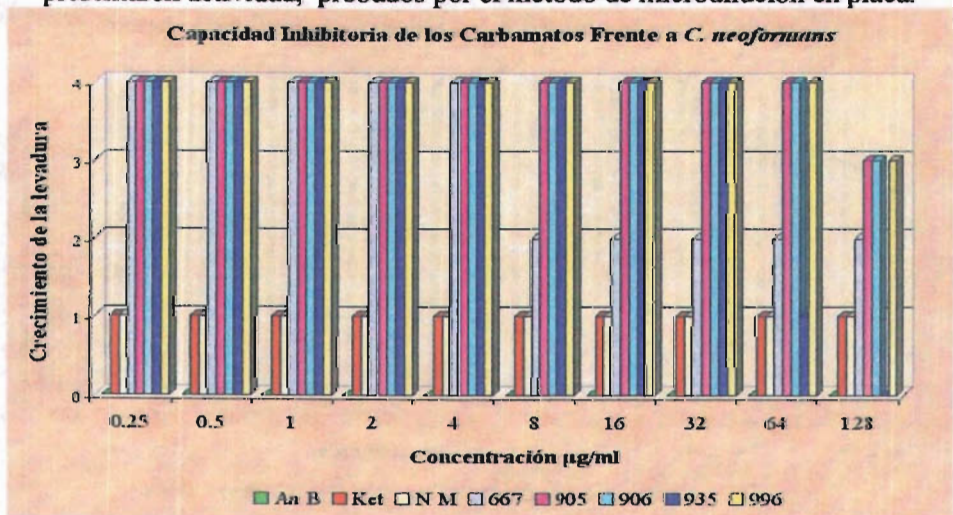


Figura 13

Susceptibilidad* de la cepa de *C. neoformans* a los compuestos que presentaron actividad, probados por el método de microdilución en placa.



* Palabras que se encuentran en el glosario

7. DISCUSIÓN.

Debido a la necesidad de encontrar nuevos fármacos que permitan un tratamiento más eficaz, eficiente y barato contra las micosis*, el presente estudio se enfoca en las primeras evaluaciones de susceptibilidad* de dos aislamientos clínicos y una cepa *ATCC 10231* de levaduras ante 21 derivados del ácido carbámico, determinándose la MIC. Cada ensayo fue realizado por sextuplicado mostrando repetibilidad en el método.

Sabemos que las variaciones en la estructura molecular (posición y/o tipos de sustituyentes en la molécula base) producen variaciones en la actividad biológica y en la toxicidad de los compuestos debido a la relación estructura-actividad; estas mismas variaciones han de ser evaluadas sobre los productos de biotransformación, los cuales pueden tener también un efecto terapéutico y/o dañino sobre el individuo. Se ha de prestar especial atención a las llamadas “estructura de alerta” ya que en estudios realizados se muestra que la mayoría de los mutágenos contienen éstos sustituyentes.¹⁶¹

Debido a que variables como el tiempo y la temperatura de incubación y la concentración del inóculo pueden afectar los resultados, durante el presente estudio éstas fueron controladas. Así mismo, se cuidó que el medio de cultivo fuera el adecuado, no estuviera caduco y estuviera estéril una vez preparado.

Como podemos observar en la **Figura 10**, el **NM** es aparentemente el antifúngico más efectivo contra las 3 cepas estudiadas, sin embargo, sabemos que los imidazoles son fugiestáticos (inhiben en un 80% el crecimiento de las levaduras), mientras que el polieno **AB** es un compuesto fungicida (mata a la levadura), por esta razón utilizamos la **AB** como nuestro antifúngico de referencia para comparar la susceptibilidad* de nuestras levaduras a los derivados del ácido carbámico.

Como podemos observar en las **Figura 11, 12 y 13**, la **AB** inhibe por completo el crecimiento de las 3 levaduras desde los 25 µg/ml; mientras que el **KET** y el **NM** lo reducen dramáticamente desde dicha concentración, sin embargo, esta inhibición no aumenta al incrementarse la concentración de los antifúngicos azólicos.

Los compuestos **LQM 905, LQM 906 y LQM 996** produjeron una ligera reducción del crecimiento en las 3 levaduras a una concentración de 128 µg/ml, la cual es una concentración 512 veces más grande que la utilizada en este estudio como mínimo para la **AB** y más de 2000 veces más alta que la MIC

para levaduras sensibles al KET y al NM; sin embargo, esta concentración es utilizada como límite superior, antes de que las levaduras *C. lusitaniae*, *C. albicans* y *C. neoformans*, se consideren resistentes a la 5FC; y *C. lusitaniae*, *C. glabrata* y *C. krusei* se consideren resistentes al FLU.

En las gráficas antes mencionadas, podemos observar que el compuesto LQM 667 produjo una prominente reducción en todas las levaduras a 8 µg/ml, una concentración apenas 32 veces mayor que la concentración mínima utilizada en este estudio y coincide con la concentración máxima utilizada de KET contra *C. albicans* y *C. neoformans*, antes de considerarse resistentes.

En las figuras 11 y 12 podemos observar que el carbamato LQM 935 inhibe totalmente el crecimiento de las dos cepas de *C. albicans* a una concentración *in vitro* de 64 µg/ml, mientras que en la figura 13 se puede apreciar que para *C. neoformans* tenemos un ligero crecimiento a esta concentración y una inhibición total de crecimiento a una concentración de 128 µg/ml

Estos estudios colocan a estos 5 carbamatos como posibles alternativas de tratamiento para *C. albicans* y *C. neoformans* si superan las pruebas preclínicas y clínicas restantes. Además, si presentaran algún efecto sinérgico con algún antifúngico, pueden ser utilizados en terapias combinadas con ellos, disminuyendo de esta forma las reacciones adversas que se puedan presentar durante el tratamiento.

Todos los compuestos se solubilizaron bien en DMSO sin embargo, en algunos de los carbamatos a concentraciones altas (64-128 µg/ml), ante la presencia del medio de cultivo (RPMI-1640), se observó una ligera precipitación; pero esto no ocurrió en ninguno de los compuestos que presentaron actividad biológica. En los controles positivos utilizados no hubo diferencia de crecimiento entre las levaduras en los pocillos con DMSO y las de los pocillos sin DMSO; sin embargo, no podemos concluir la no interferencia del disolvente en las pruebas de susceptibilidad*, dado que a pesar de no afectar el desarrollo de las levaduras se han encontrado reportes de que este disolvente afecta la permeabilidad de la pared celular de las levaduras volviéndolas más susceptibles a los compuestos probados. Algunos autores reportan que el DMSO suele ser extremadamente tóxico al combinarse con algunos azoles^{1,43}, esto se consideró debido a que como compuestos control se utilizaron KET y NM, aunque a la fecha no se conoce alguna interacción con AB y los uretanos*.

El fenil carbamato LQM 996 parece ser el carbamato estrella de ésta línea de derivados del ácido carbámico, ya que ha demostrado ser antibiótico de

amplio espectro, contra *Escherichia coli*, *Salmonella* y *Helicobacter pylori*; contra protozoarios como *Giardia lamblia* y *Entamoeba*; cestodos como *Hymenolepis nana*; y hongos* *C. albicans*, *C. neoformans*, *Thicophitum* y *T. mentagrophytes*. La baja genotoxicidad y citotoxicidad de este compuesto (30 y 300 mg/kg a 48 y 72 hrs. de tratamiento) en comparación con otros derivados del ácido carbámico e inclusive en comparación con el mebendazol y metronidazol.^{161, 156, 144, 110}

Si bien los uretanos* han demostrado actividad biológica antifúngica *in vitro* contra *C. neoformans*, no debemos olvidar hasta ahora en los estudios hechos a compuestos de ésta familia (aunque no a alguno de los compuestos aquí analizados en particular), se ha demostrado que no atraviesan barrera hematoencefálica, lo cual limita su toxicidad a nivel de SNC^{153, 154, 158}, que es justamente uno de los sitios que el microorganismo antes citado gusta de infectar. Si nuestros fenilcarbamatos no son capaces de atravesar ésta barrera, entonces resutarán ineficaces en el tratamiento de *C. neoformans*, cuando éste se encuentre comprometiendo al cerebro; sin embargo, si nuestros compuestos fuesen capaces de atravesar dicha barrera, nos encontraríamos ante lo que podría resultar una excelente alternativa de tratamiento, ya que en estos casos la única terapia efectiva conocida hasta la fecha es la **AB**, la cual, como se ha indicado en la introducción, es altamente tóxica.

Aún falta realizar más **Pruebas Preclínicas**, entre otras cosas es necesario evaluar:

- a) La toxicidad de nuestros compuestos en otra especie distinta a roedor; para aquellos compuestos a los que ya se les determinó en roedor; y en roedor y no roedor para los que faltan.
- b) Considerar el pH óptimo para la absorción y así determinar si es el estómago o el intestino el sitio ideal para que ésta se lleve a cabo, o bien conocer la absorción por piel, si la formulación será de uso tópico.
- c) Saber que porcentaje es absorbido y que factores pueden aumentar o disminuir este porcentaje. En la mayoría de los casos de antifúngicos, la absorción por vía tópica es mínima, lo cual permite incrementar las dosis sin que esto implique necesariamente un riesgo alto para el paciente.
- d) Conocer el efecto del primer paso hepático dado que la vía oral es la forma de administración más común conjuntamente con la vía tópica, para pacientes con parasitismo fúngico; como sabemos, los fármacos al ser administrados por vía oral, llegan del intestino a la vena porta, la cual pasa el flujo sanguíneo a travez del hígado, antes de liberarlo a la circulación

general; la biotransformación de los fármacos en el hígado puede reducir dramáticamente la concentración plasmática de los mismos, disminuyendo consecuentemente su capacidad antifúngica, o bien puede potenciarla, si se tratara de un profármaco*.

- e) Las interacciones medicamentosas con fármacos como la cimetidina, los cuales inhiben los mecanismos enzimáticos encargados de la biotransformación de los carbamatos¹⁵⁴ y en consecuencia producen una elevación de la concentración sérica de los mismos, lo que nos podría conducir a efectos tóxicos, si no se vigila y controla, o bien a disminuir la cantidad de uretano que deba ser administrada al paciente para alcanzar la concentración sérica deseada. También sería recomendable realizar pruebas cruzadas entre los carbamatos que presentaron actividad biológica y los antifúngicos utilizados de referencia, para comprobar si existe sinergismo o antagonismo; en el **anexo 4** se muestra la forma de hacerlo.
- f) La bioacumulación, determinada en los órganos o tejidos por los que los carbamatos presenten afinidad y el tiempo que permanecen en los mismos.
- g) La vida media nos ayudaría a conocer los intervalos de tiempo a los que debe ser administrado para mantener las concentraciones séricas óptimas.
- h) Los efectos en el organismo de los productos de biotransformación y
- i) La excreción de éstos y de los uretanos* sin biotransformar.

Hasta el momento, los resultados obtenidos resultan alentadores, y, aunque aún queda aún un largo camino por recorrer, los carbamatos tienen buenas oportunidades de resultar una alternativa viable a los fármacos antifúngicos existentes en el mercado.

* Palabras que se encuentran en el glosario

8. CONCLUSIONES

1. Se confirmó la identidad de las levaduras utilizadas como *C. albicans* y *C. neoformans* provenientes de un aislamiento clínico, y *C. albicans* ATCC 10231.
2. La cepa *C. albicans* ATCC 10231 presentó MIC's de 0.250 µg/ml a AB y 0.031 µg/ml a KET y NM. La cepa *C. albicans* proveniente de aislamiento clínico exhibió MIC's de 0.250, 0.125 y 0.031 µg/ml a AB, KET y NM respectivamente. La cepa *C. neoformans* originaria de aislamiento clínico mostró MIC's de 0.250 µg/ml a AB y KET, y 0.062 µg/ml a NM.
3. De los 21 derivados de ácido carbámico probados 5 presentaron actividad biológica contra los microorganismos estudiados, mostrando el mismo perfil* de sensibilidad «*in vitro*» las dos cepas de *C. albicans* y la de *C. neoformans*, para 4 de los carbamatos obteniéndose una ligera inhibición de crecimiento a una concentración de 128 µg/ml con los compuestos LQM 905, LQM 906 y LQM 996, y una prominente reducción de crecimiento a la concentración de 8 µg/ml el compuesto LQM 667. Para las cepas de *C. albicans* se observó una inhibición total de crecimiento a 64 µg/ml con el fenilcarbamato LQM 935, mientras que *C. neoformans* ante este derivado del ácido carbámico mostró un ligero crecimiento a esta concentración y una inhibición total de crecimiento a 128 µg/ml.
4. El fenilcarbamato LQM 935 al igual que la AB inhibe completamente el crecimiento de las levaduras aunque a una concentración 256 veces mayor, sin embargo dado que el FLU es utilizado a estas dosis, puede ser una alternativa viable.
5. Los 4 fenilcarbamatos restantes presentan una menor actividad que los antimicóticos de referencia, de ellos es el LQM 667 el que presenta más actividad a la menor concentración, apenas 32 veces mayor que la requerida para AB, mientras que el LQM 905, LQM 906 y LQM 996 inhibieron menos el crecimiento de la levadura a una concentración 512 veces mayor que la MIC de AB.

* Palabras que se encuentran en el glosario

9. GLOSARIO¹⁹¹⁻¹⁹³

- **ABSCESO*** **Inglés: abscess.** Cavidad que contiene pus y está rodeada por tejido inflamado; se forma como consecuencia de la supuración en una infección localizada (típicamente una infección estafilocócica). Generalmente se produce la curación cuando el absceso* drena o es sometido a una incisión.
- **ACETILCOLINESTERASA*** **Inglés: acetylcholinesterase [AChE].** Enzima que inactiva el neurotransmisor acetilcolina hidrolizándolo a colina y acetato. De esta forma se reduce o impide la descarga neuronal excesiva en las uniones neuromusculares. La acetilcolinesterasa o colinesterasa verdadera se encuentra en eritrocitos y terminaciones de nervios colinérgicos y juega un papel importante en la regulación de la transmisión del impulso nervioso a través del mediador químico acetilcolina. Una segunda forma de colinesterasa, la butirilcolinesterasa o pseudocolinesterasa, que se encuentra en plasma, músculo liso, hígado y adipocitos; se caracteriza por hidrolizar butirilcolina, e inclusive acetilcolina. Ésta es de estimable valor práctico en la determinación de la intoxicación por compuestos organofosforados y gases nerviosos, así como un índice de la función hepática.
- **ACTINOMICOSIS*** **Inglés: actinomycosis.** Enfermedad sistémica crónica caracterizada por el desarrollo de abscesos* profundos que hacen prominencia en la piel y eliminan un pus granular a través de múltiples senos. Las diversas especies de *Actinomyces* son específicas de especie. El microorganismo causal en el ser humano es *A. israelii*, que habita normalmente en el intestino y en la boca. La enfermedad se produce después de una lesión tisular*, generalmente en presencia de otro microorganismo infectante. La actinomicosis* cervicofacial se produce por diseminación de la bacteria al tejido subcutáneo de la boca, la garganta y el cuello, a partir de una infección dental o amigdalina. La actinomicosis* torácica puede deberse a la proliferación del microorganismo a partir de abscesos* cervicofaciales hacia el interior del esófago, los bronquios, los pulmones, la pleura o el mediastino. En esta forma de la enfermedad es característica la aparición de fiebre, tos, senos que drenan pus, pérdida de peso, sudoración nocturna y, excepcionalmente, derrame pleural. La actinomicosis* abdominal suele seguir a un proceso* inflamatorio agudo

del estómago o del intestino, tal como apendicitis, diverticulosis del intestino grueso o perforación gástrica. La actinomicosis* generalizada puede afectar a la piel, cerebro, hígado y tracto genitourinario. Existe una forma pélvica de actinomicosis* abdominal que tiene lugar tras la inserción de dispositivos intrauterinos con fines anticonceptivos.

- **ADRENAL*** Situado cerca del riñón.
- **ALOPECIA*** **Inglés: alopecia.** Ausencia parcial o completa de pelo como consecuencia del envejecimiento normal, de trastornos endocrinos*, de reacciones a fármacos, de medicamentos anticancerosos o de enfermedades cutáneas. Algunos tipos de alopecia* son: alopecia* areata, alopecia* total y alopecia* universal.
- **ANAFILACTOIDES*** Ver: ANAFILAXIA*.
- **ANAFILAXIA*** **Inglés: anaphylaxis.** Reacción exagerada de hipersensibilidad ante la exposición a un antígeno al que el sujeto había estado previamente expuesto. La respuesta, que está mediada por anticuerpos correspondientes a la clase IgE de inmunoglobulinas, provoca la liberación de histamina, de quinina y de sustancias que afectan al músculo liso. La reacción puede consistir en la aparición de una roncha localizada, o bien en un brote de prurito* generalizado, con hiperemia, edema angioneurótico y, en los casos graves, colapso vascular, broncoespasmo y shock. La gravedad de los síntomas depende de la dosis sensibilizante original del antígeno, de la cantidad y de la distribución de los anticuerpos y de la puerta de entrada y de la dosis de antígeno responsable de la anafilaxia*. La causa más frecuente de shock anafiláctico es la inyección de penicilina. Algunos tipos de anafilaxia* son: anafilaxia* citotóxica, anafilaxia* cutánea, anafilaxia* indirecta, anafilaxia* inversa, anafilaxia* por agregados y anafilaxia* por antisueros.
- **ANTIBACTERIANO*** **Inglés: antibacterial.** 1. relativo a una sustancia que destruye las bacterias o que inhibe su crecimiento o replicación. 2. agente antibacteriano*. Los antibióticos, sintetizados químicamente o derivados de diversos microorganismos, ejercen su efecto bactericida o bacteriostático inhibiendo la síntesis de la pared celular bacteriana, al actuar sobre la síntesis proteica, la síntesis de ácidos nucleicos o la integridad de la membrana celular, o bien inhibiendo ciertas vías de importancia crítica en la biosíntesis de la bacteria.
- **ANTIFAGOCÍTICA*** No fagocítica. Ver: FAGOCITAR*.

- **APOTEGMA*** Dicho breve y sentencioso, especialmente el atribuido a una persona ilustre
- **ASPERGILOSIS*** **Inglés: aspergillosis.** Infección producida por un hongo del género *Aspergillus*, que suele afectar al oído, y que puede producir lesiones inflamatorias granulomatosas en el mismo o en cualquier otro órgano.
- **AZOOSPERMIA*** **Inglés: azoospermia.** Ausencia de espermatozoides en el semen. Puede estar producida por una disfunción testicular o por un bloqueo en los túbulos del epididimo, o bien puede haber sido inducida por una vasectomía.
- **BASIDIO*** Órgano productor de esporas de los hongos basidiomiceto*s.
- **BASIDIOMICETO*** Orden de hongos verdaderos cuyas esporas se hallan en unos órganos en forma de maza (basidios*).
- **BLASTOMICOSIS*** **Inglés: blastomycosis.** Enfermedad infecciosa causada por un hongo, *Blastomyces dermatitidis*, que habitualmente sólo afecta a la piel, pero que puede invadir los pulmones, los riñones, el sistema nervioso central y los huesos. Las infecciones cutáneas a menudo comienzan como pequeñas pápulas en las manos, cara, cuello u otras áreas expuestas en las que se ha producido un corte, magulladura u otra lesión y se extiende a las áreas adyacentes. Cuando están afectados los pulmones, en la radiografía torácica aparecen lesiones tumorales semejantes al cáncer.
- **BOTRIOMICOSIS*** **Inglés: botryomycoses.** Enfermedad de los caballos y camellos, causada por el *Micrococcus ascoformans*.
- **BRONCOSPASMO*** **Inglés: bronchospasm.** Contracción anormal del músculo liso de los bronquios que origina un estrechamiento agudo y una obstrucción de las vías respiratorias. La tos con sibilancias generalizadas suele indicar la existencia de este trastorno.
- **CANDIDIASIS*** **Inglés: candidiasis.** Cualquier infección causada por especies de *Candida*, habitualmente *Candida albicans*, caracterizada por prurito*, exudado* blanco, descamación y facilidad de hemorragia. El exantema* del pañal, el intertrigo, la vaginitis y el muguet son manifestaciones tópicas frecuentes de la candidiasis*.
- **CAPACIDAD INMUNOGÉNICA*** **Inglés: immunogenecity.** Capacidad de un antígeno para inducir una respuesta inmunológica
- **CEFALEA*** **Inglés: headache.** Dolor de cabeza de cualquier causa. Algunos tipos de cefalea* son: cefalea* funcional, cefalea* migrañosa, cefalea* orgánica, cefalea* sinusal y cefalea* tensional.

- **CIGOMICOSIS*** **Inglés: zygomycosis.** Infección micótica aguda, con frecuencia fulminante y en ocasiones mortal, provocada por una clase de hongos* de agua ficomicéticos, observada principalmente en pacientes con enfermedades debilitantes crónicas. Comienza con fiebre y dolor y secreción por la nariz y senos paranasales, que evoluciona hasta invadir el ojo y las vías respiratorias inferiores. El hongo puede entrar en los vasos sanguíneos y extenderse hacia el cerebro u otros órganos.
- **CISTITIS*** **Inglés: cistitis.** Trastorno inflamatorio de la vejiga urinaria y de los uréteres caracterizado por dolor, urgencia para orinar, frecuencia urinaria y hematuria. Puede estar provocada por infecciones bacterianas, cálculos o tumores.
- **CITOCROMO P450*** **Inglés: cytochrome P-450.** Proteína citocrómica que participa en el transporte de electrones extramitocondriales en el hígado y en la desintoxicación de fármacos.
- **CITOQUINAS*** **Inglés: cytochemistry.** Estudio de los distintos productos químicos presentes en una célula viva y de sus acciones y funciones.
- **CLAMIDOSPORAS*** 1. Esporas cubiertas 2. Órgano reproductor de ciertos órganos.
- **COCCIDIOMICOSIS*** **Inglés: coccidioidomycosis.** Infección producida por hongos* por la inhalación de esporas de *Coccidioides immitis*, que se transporta a través de las partículas del polvo. La enfermedad es endémica en regiones secas y calurosas de América del Norte y del Sur. La infección primaria se caracteriza por síntomas que recuerdan a los del resfriado común o de la gripe. La infección secundaria, que se produce después de un periodo de remisión, se caracteriza por febrícula, anorexia y pérdida de peso, cianosis, disnea*, hemoptisis, lesiones cutáneas focales que recuerdan al eritema nodoso y dolor óseo y articular.
- **CONCOMITANTE*** **Inglés: concomitant.** Designación de uno, más de dos o más cosas, que ocurren simultáneamente, que pueden o no estar interrelacionados o producidos como resultado de los demás; acompañante.
- **CONDIO*** Espora asexual en el extremo de un filamento micélico.
- **CORTISOL*** **Inglés: cortisol.** Hormona esteroide*a que existe de forma natural en el cuerpo y que se fabrica sintéticamente para uso farmacológico. Se emplea como agente antiinflamatorio.
- **CORTISONA*** **Inglés: cortisona.** Glucocorticoide sintetizado en el

hígado y producido también de forma sintética. Se utiliza como agente antiinflamatorio.

- **CRIPTOCOCOSIS*** **Inglés: cryptococcosis.** Enfermedad infecciosa causada por el hongo *Cryptococcus neoformans*, que se propaga desde los pulmones al cerebro y sistema nervioso central, piel, sistema esquelético y tracto urinario. Los síntomas iniciales pueden consistir en tos y otras manifestaciones respiratorias, ya que los pulmones son el primer punto de localización de la infección. Después el hongo se extiende a las meninges, desarrollando síntomas neurológicos que incluyen cefalea*s, visión borrosa y dificultad para hablar.
- **CROMOBLASTOMICOSIS*** **Inglés: chromoblastomycosis.** Enfermedad cutánea infecciosa provocada por cualquier variedad de hongo, caracterizada por la presencia de nódulos verrugosos pruríticos que se desarrollan sobre una lesión o discontinuidad de la piel.
- **CRÓNICO*** **Inglés: chronic.** (de una enfermedad o trastorno), que se desarrolla lentamente y persiste durante un largo período de tiempo, generalmente el resto de la vida del sujeto.
- **DERMATOFITOSIS*** **Inglés: dermatophytosis.** Infección fúngica** superficial de la piel, producida por distintas especies de dermatofitos de los géneros *Microsporium*, *Epidermophyton* o *Trichophyton*. Cuando afecta al tronco y las extremidades superiores suele llamársele tiña* del cuerpo y se caracteriza por manchas redondas u ovales, escamosas, con bordes ligeramente elevados y centro claro. En los pies producen pequeñas vesículas que se agrietan, pican y se descaman, con frecuentes infecciones bacterianas secundarias, y reciben habitualmente el nombre de "pie de atleta".
- **DIÁLISIS*** **Inglés: dialysis.** 1. proceso* para separar las sustancias coloides y cristalinas de una solución por la diferencia de su velocidad de difusión a través de una membrana semipermeable. 2. técnica médica para extraer determinados elementos de la sangre o la linfa en virtud de la diferencia de sus velocidades de difusión a través de una membrana semipermeable externa o, en el caso de la diálisis* peritoneal, a través del peritoneo.
- **DIMORFISMO*** Ver: DIMORFO*
- **DIMORFO*** **Inglés: dimorphous.** En biología, química y genética, organismo o sustancia que existe en dos formas diferentes.
- **DISNEA*** **Inglés: dyspnea.** Falta de aliento o dificultad para respirar que

pueden producir ciertos procesos cardíacos, ejercicios extenuantes o ansiedad.

- **DISPEPSIA*** **Inglés: dispepsia.** Vago sentimiento de molestia en el epigastrio, que se nota después de comer. Se tiene una sensación desagradable de plenitud, pirosis, flatulencia y náuseas.
- **DISTOCIA*** **Inglés: dystocia.** Parto patológico* o complicado, que puede estar causado por la obstrucción o el estrechamiento del canal del parto, o por un tamaño, forma, posición o proceso* anormales del feto.
- **EMBRIOTÓXICO*** Tóxico para los embriones.
- **ENDOCRINO*** **Inglés: endocrine.** Perteneciente o relativo a un proceso* en el que un grupo de células secretan hacia la circulación sanguínea o linfática una sustancia que tiene efectos específicos sobre los tejidos de otras partes del cuerpo.
- **ENFERMEDAD DE BASE*** Enfermedad principal que padece un paciente, a partir de la cual se originan o se predispone para que ocurran otras.
- **ENFERMEDAD DE CUSHING*** **Inglés: Cushing disease.** Trastorno metabólico caracterizado por una secreción excesiva de esteroides* adrenocorticales producida por un aumento de la secreción hipofisaria de hormona adrenocorticotropa (ACTH), como en los adenomas hipofisarios. El exceso de hormonas adrenocorticales produce una acumulación de grasa en el tórax, nuca y cara, y edema, hiperglucemia, aumento de la gluconeogénesis, debilidad muscular, estrias cutáneas rojo-vinosas, descenso de la inmunidad frente a infecciones, osteoporosis con posibilidad de fracturas óseas, acné e hirsutismo facial.
- **EPÍTOPE*** **Inglés: epitope.** Determinante antigénico que produce la reacción específica a través de una inmunoglobulina. Está formado por un grupo de aminoácidos presentes en la superficie del antígeno.
- **ERGOSTEROL*** **Inglés: ergosterol.** Esterol insaturado del grupo de la vitamina D aislado de las levaduras, champiñones, cornezuelo de centeno y otros hongos*. Cuando se trata con radiación ultravioleta se convierte en vitamina D₂.
- **ERITRASMA*** **Inglés: erythrasma.** Infección cutánea bacteriana de las regiones inguinal o axilar, caracterizada por la presencia de placas elevadas, irregulares, de color marrón rojizo.
- **ESPOROTRICOSIS*** **Inglés: sporotrichosis.** Infección por hongos* crónica, frecuente, provocada por la especie *Sporothrix schenckii*, y que

generalmente se caracteriza por úlceras cutáneas y nódulos subcutáneos a lo largo de los conductos linfáticos. El hongo se encuentra en el suelo y en la vegetación en putrefacción, y su entrada en la piel se realiza casi siempre a través de heridas accidentales.

- **ESPUTO*** **Inglés: sputum.** Material expulsado por la tos, procedente de los pulmones y expectorado a través de la boca. Contiene moco, restos celulares o microorganismos, y en ocasiones también sangre o pus. La cantidad, el color y la composición del esputo* son datos importantes para el diagnóstico de numerosas enfermedades.
- **ESTEROIDE ANABOLIZANTE*** **Inglés: anabolic steroid.** Cualquiera de los diversos compuestos derivados de la testosterona o de origen sintético, que favorecen el crecimiento del cuerpo en general, se oponen a los efectos de los estrógenos endógenos o que potencian los efectos masculinizantes. Todos estos compuestos producen un efecto mixto androgénico-anabolizante. Los esteroides* anabolizantes se prescriben para el tratamiento de la aplasia medular, de la aplasia selectiva de células rojas, de la anemia hemolítica y de las anemias asociadas con nefropatía, metaplasia mieloide y leucemias.
- **ESTRADIOL*** **Inglés: estradiol.** El estrógeno natural humano más potente, presente también en los ovarios de cerdo y en la orina de las yeguas preñadas.
- **RASH*** **Inglés: rash** Ver EXANTEMA*
- **EXANTEMA*** **Inglés: exanthema.** Erupción cutánea que puede tener las características diagnósticas específicas de una enfermedad infecciosa. La varicela, el sarampión, la roséola infantil y la rubéola suelen caracterizarse por un tipo de exantema* especial. Algunos tipos de exantema* son: exantema* del pañal, exantema* en alas de mariposa, exantema* medicamentoso y exantema* por calor.
- **ETIOLOGÍA*** **Inglés: etiology.** 1. estudio de todos los factores implicados en el desarrollo de una enfermedad, incluyendo la susceptibilidad* del paciente y la naturaleza de la enfermedad. 2. causa de una enfermedad.
- **ETIOLÓGICOS*** Ver: ETIOLOGÍA*.
- **EXUDADO*** **Inglés: exudate.** Líquido, células u otras sustancias que se han exudado* o expulsado lentamente desde las células o vasos sanguíneos a través de pequeños poros u orificios en las membranas celulares.

- **FAGOCITAR*** **Inglés: phagocytize.** Englobar y destruir bacterias u otros materiales extraños
- **FIBRILACIÓN*** **Inglés: fibrillation.** Contracción involuntaria recurrente de una fibra muscular aislada o de un haz aislado de fibras nerviosas. La fibrilación* se suele describir como la parte que se está contrayendo de forma anormal, como la fibrilación* auricular o la ventricular.
- **FIBRILAR*** Ver: FIBRILACIÓN
- **FITOPATOLOGÍA*** 1. Patología de las plantas, 2. Patología de los estados producidos por organismos vegetales parasitarios.
- **FONTANELA*** **Inglés: fontanel, fontanelle.** Espacio cubierto por una membrana resistente, situada entre los huesos del cráneo del lactante.
- **FOTOFobia*** **Inglés: photophobia.** 1. sensibilidad anormal a la luz, especialmente en los ojos. Este trastorno es prevalente en el albinismo y en diversas enfermedades de la conjuntiva y de la córnea y puede constituir un síntoma de enfermedades tales como sarampión, psitacosis, encefalitis, fiebre manchada de las Montañas Rocosas y del síndrome de Reiter. 2. (en psiquiatría) temor mórbido a la luz con una necesidad irracional de evitar los lugares con luz.
- **GEMANTE*** **Inglés: gemmate.** 1. que tiene yemas. 2. que se reproduce por gemación.
- **GINECOMASTIA*** **Inglés: gynecomastia.** Aumento anormal del tamaño de una o ambas mamas en el varón. Suele ser temporal y benigno. Puede estar producido por un desequilibrio hormonal, tumor testicular o hipofisario, tratamiento con estrógenos o compuestos esteroide*os o por incapacidad del hígado para inactivar los estrógenos circulantes, como ocurre en la cirrosis alcohólica.
- **GLOSITIS*** **Inglés: glossitis.** Inflamación de la lengua. La glositis* aguda, caracterizada por tumefacción, intenso dolor que puede irradiarse a los oídos, salivación, fiebre y aumento de tamaño de los ganglios linfáticos regionales, puede aparecer en el transcurso de una enfermedad infecciosa o tras una quemadura, picadura u otra lesión.
- **GRANULOMA*** **Inglés: granuloma, pl granulomas, granulomata.** Masa de tejido de granulación nodular producida por inflamación, lesión o infección. Está constituido por capilares y fibroblastos en crecimiento.
- **HEMODIÁLISIS*** **Inglés: hemodiálisis.** Procedimiento para eliminar las impurezas y sustancias de desecho de la sangre, utilizado en el tratamiento de la insuficiencia renal y en diferentes procesos tóxicos. La sangre del

paciente pasa a través de una máquina por difusión y ultrafiltración y después se devuelve a la circulación del paciente. La hemodiálisis* requiere el acceso a la corriente sanguínea del paciente, un mecanismo para el transporte de la sangre hacia y desde el dializador y un dializador. El acceso se puede lograr a través de una derivación externa o de una fistula arteriovenosa. La derivación externa se crea insertando dos cánulas a través de la piel en una vena de gran calibre y en una arteria de gran calibre. La fistula arteriovenosa se crea mediante la anastomosis de una vena de gran calibre a una arteria. La diálisis* dura entre 3 y 8 horas y puede ser necesaria a diario en situaciones agudas o 2 o 3 veces a la semana en la insuficiencia renal crónica.

- **HETERÓTROFO*** Organismo que no sintetiza su propio alimento.
- **HIPERVENTILACIÓN*** **Inglés: hyperventilation.** Frecuencia de ventilación pulmonar mayor a la metabólicamente necesaria para el intercambio de los gases respiratorios. Es el resultado de una frecuencia respiratoria aumentada, de un aumento del volumen corriente en reposo o de una combinación de ambos factores, y produce una entrada excesiva de oxígeno con espiración de dióxido de carbono. Aparecen entonces hipocapnia y alcalosis respiratoria, produciéndose dolor torácico, vértigo, desfallecimiento, entumecimiento de los dedos de las manos y los pies y alteración psicomotora.
- **HIPOCALCEMIA*** **Inglés: hypocalcemia.** Deficiencia de calcio en el suero que puede estar causada por hipoparatiroidismo, deficiencia de vitamina D, insuficiencia renal, pancreatitis aguda o por una concentración inadecuada de magnesio y proteínas en el plasma. La hipocalcemia* leve es asintomática. La hipocalcemia* grave se caracteriza por arritmias cardíacas y tetania con hiperparestesia de las manos, pies, labios y lengua.
- **HIPOCALIEMIA*** **Inglés: hypokalemia.** Trastorno caracterizado por la existencia de una concentración reducida de potasio, el principal catión intracelular, en la sangre circulante. La hipocaliemia* se caracteriza por alteraciones electrocardiográficas, debilidad y parálisis flácida y puede estar causada por ayuno, tratamiento de la acidosis diabética, tumor suprarrenal o tratamiento diurético.
- **HIPOMAGNESEMIA*** **Inglés: hypomagnesemia.** Concentración plasmática de magnesio anormalmente baja, que produce náuseas, vómitos, debilidad muscular, temblores, tetania y letargia. La hipomagnesemia* leve habitualmente es el resultado de una absorción

inadecuada de magnesio a nivel renal o intestinal. Las formas más graves se asocian con los síndromes de malabsorción, la malnutrición proteica y la patología paratiroidea.

- **HIPOPOTASEMIA*** **Inglés: hypopotassemia.** Ver HIPOCALIEMIA*.
- **HIPOTENSIÓN*** **Inglés: hypotension.** Enfermedad en la que la presión sanguínea no es la adecuada para la perfusión y oxigenación normal de los tejidos. Puede estar ocasionada por la expansión del espacio intravascular, por la disminución del volumen intravascular o por una contractilidad cardíaca disminuida.
- **HIPOXIA*** **Inglés: hypoxia.** Tensión de oxígeno celular inadecuada, disminuida, caracterizada por cianosis, taquicardia*, hipertensión, vasoconstricción periférica, desvanecimiento y confusión mental. Los tejidos más sensibles a la hipoxia* son el cerebro, el corazón, los vasos pulmonares y el hígado.
- **HISTOPLASMOSIS*** **Inglés: histoplasmosis.** Infección causada por la inhalación de esporas del hongo *Histoplasma capsulatum*. La histoplasmosis* primaria se caracteriza por fiebre, malestar, tos y linfadenopatía. Es habitual la recuperación espontánea; permanecen pequeñas calcificaciones en el pulmón y en los ganglios linfáticos afectados. La histoplasmosis* progresiva, la forma a veces mortal y diseminada de la infección, se caracteriza por la presencia de lesiones ulceradas en la boca y en la nariz, esplenomegalia, hepatomegalia y linfadenomegalias y por infiltración extensa y grave de los pulmones.
- **HONGOS*** **Inglés: fungi, sing. fungus.** Término general para los organismos eucarióticos formadores de talo que requieren una fuente externa de carbón. Los hongos* carecen tanto de sistema clorofílico como quimiolitotrófico. Pueden ser saprófitos o parásitos y se reproducen mediante la producción de esporas. Pueden invadir los organismos vivos, incluido el ser humano, así como las sustancias orgánicas sin vida.
- **INFECCIÓN FÚNGICA*** **Inglés: fungal infection.** Cualquier proceso* inflamatorio producido por hongos*. La mayoría de las infecciones fúngicas son superficiales y leves, aunque persistentes y difíciles de erradicar. Algunos tipos de infecciones fúngicas son: aspergilosis*, blastomicosis*, candidiasis*, coccidiomicosis e histoplasmosis*.
- **INFECCIÓN SISTÉMICA*** **Inglés: systemic infection.** Infección en la que el patógeno* está distribuido por todo el organismo, en vez de concentrarse en una zona.

- **INFRAMAMARIOS*** **Inglés: inframamary.** Relativo al área situada bajo los senos.
- **INMUNODEFICIENTES*** **Inglés: immunodeficient.** Relativo a un trastorno del sistema inmune, en el que la inmunidad humoral o celular es infrecuente y está disminuida la resistencia a la infección. Son tipos de procesos de inmunodeficiencia la aplasia linfoide y la hipogammaglobulinemia.
- **INMUNOSUPRESOR*** **Inglés: immunosuppressive.** 1. perteneciente o relativo a una sustancia o técnica que disminuye o impide la respuesta inmunitaria. 2. agente inmunosupresor*, como los fármacos inmunosupresor*es utilizados para evitar el rechazo de homoinjertos.
- **INTRAPERITONEAL*** Situado o que ocurre dentro de la cavidad peritoneal.
- **INTRATECAL*** **Inglés: intrathecal.** Perteneciente o relativo a una estructura, proceso* o sustancia situado en el interior de una vaina, como el líquido cefalorraquídeo de la teca del canal espinal.
- **KERNICTERUS*** **Inglés: kernicterus.** Acumulación tóxica anómala de bilirrubina en los tejidos del sistema nervioso central, debida a hiperbilirrubinemia.
- **LEVADURIFORME*** Con forma de levadura
- **LISIS*** **Inglés: lysis.** 1. destrucción o disolución de una célula o molécula mediante la acción de un agente específico. La lisis* celular está producida con frecuencia por una lisina. 2. disminución gradual de los síntomas de una enfermedad.
- **LUMBAGO*** Neuralgia o reumatismo de los lomos; mialgia lumbar.
- **LUMBALGIA*** Ver: LUMBAGO*.
- **MENINGITIS*** **Inglés: meningitis, pl meningitides.** Cualquier infección o inflamación de las membranas que envuelven el cerebro y la médula espinal. Normalmente es purulenta y afecta al líquido del espacio subaracnoideo. Se caracteriza por cefalea* intensa, vómitos y dolor y rigidez de nuca. Su causa más frecuente es la infección bacteriana por *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* o *Haemophilus influenzae*. La meningitis* aséptica puede estar provocada por otros tipos de bacterias, irritación química, neoplasias o virus. Muchas de estas enfermedades son benignas y autolimitadas, como las meningitis* producidas por cepas de virus Coxsackie o ECHO. Otras son más graves, como en las que participan arbovirus, virus del herpes o de la poliomielitis.

Levaduras como *Candida* u hongos* como *Cryptococcus* pueden producir meningitis* graves, con frecuencia mortales. La meningitis* tuberculosa, siempre fatal si no se trata, puede producir distintas anomalías neurológicas, incluso con los mejores tratamientos disponibles.

- **MICETOMA*** **Inglés: mycetoma.** Infección micótica grave que afecta a la piel, al tejido subcutáneo, a la fascia y al hueso. Un tipo de micetoma* es el pie de Madura.
- **MICOLOGÍA*** **Inglés: mycology.** Estudio de los hongos* y de las enfermedades micóticas.
- **MICOSIS*** **Inglés: mycosis.** Cualquier enfermedad producida por hongos*. Algunos tipos de micosis* son: candidiasis*, coccidioidomicosis y pie de atleta.
- **MICROBIOTA*** Microorganismos que conforman la flora normal de un ser vivo.
- **MILIARES*** **Inglés: miliary.** Relativo al trastorno caracterizado por la aparición de lesiones muy pequeñas, del tamaño de las semillas de mijo, como la tuberculosis miliar, que se caracteriza por la aparición de tubérculos diminutos distribuidos por todo el organismo.
- **MORBILETALIDAD*** Número proporcional de personas que enferman y mueren en población y tiempos determinados.
- **MORFOLOGÍA*** **Inglés: morfophology.** Estudio de la forma física y del tamaño de una muestra, planta o animal.
- **NECROSIS*** **Inglés: necrosis.** Muerte tisular* local que se produce en grupos de células como respuesta a enfermedades o lesiones. En la necrosis* coagulativa, coágulos sanguíneos bloquean el flujo de sangre y producen isquemia tisular* distal al trombo; en la necrosis* gangrenosa, la isquemia, combinada con la acción bacteriana, hacen que se produzca la putrefacción.
- **NEFROTÓXICO*** **Inglés: nephrotoxic.** Tóxico o destructivo para el riñón.
- **NEUTROPENIA*** **Inglés: neutropenia.** Descenso anormal del número de neutrófilos de la sangre. La neutropenia* se asocia a leucemia aguda, infección, artritis reumatoide, insuficiencia de vitamina B₁₂ y esplenomegalia crónica.
- **NOCARDIOSIS*** **Inglés: nocardiosis.** Infección por *Nocardia asteroides*, especie aerobia grampositiva de actinomiceto, caracterizada por neumonía, a menudo cavitada, y por abscesos* crónico*s en el cerebro

y tejidos subcutáneos. Los microorganismos penetran por el tracto respiratorio y se diseminan por el torrente sanguíneo, especialmente en el síndrome de Cushing*.

- **NODO*** **Inglés: node.** 1. terminal simple de ordenador en una red de terminales y ordenadores. 2. masa pequeña y redonda.
- **NOSOCOMIAL*** **Inglés: nosocomial.** Perteneciente o relativo al hospital.
- **OCCLUSIÓN*** **Inglés: occlusion.** 1. (en anatomía) bloqueo de un canal, vaso o conducto del cuerpo. 2. (en odontología) cualquier contacto entre las superficies de incisión y masticación de los dientes de los maxilares superior e inferior.
- **OCULOMICOSIS*** Micosis ocular.
- **OLIGODACTILIA*** **Inglés: oligodactyly.** Anomalía congénita caracterizada por la ausencia de uno o más de los dedos de las manos o de los pies.
- **OLIGOSPERMIA*** **Inglés: oligospermia.** Cantidad insuficiente de espermatozoides en el semen.
- **ORQUIEPIDIDIMITIS*** **Inglés: orchiepididymitis.** Inflamación simultánea del testículo y el epidídimo.
- **OTOMICOSIS*** **Inglés: otomycosis.** Lesión del oído externo causada por una infección fúngica*.
- **PAPILEDEMA*** **Inglés: papilledema, pl papilledemas, papilledemata.** Inflamación de la papila óptica producida por un aumento de la presión intracraneal. Las meninges que rodean a los nervios ópticos desde la papila óptica se continúan con las meninges del cerebro; por lo tanto, el aumento de la presión intracraneal se transmite hacia delante desde el cerebro hasta la papila óptica del ojo, provocando su inflamación.
- **PARACOCCIDIOMICOSIS*** **Inglés: paracoccidioidomycosis.** Infección micótica crónica, en algunas ocasiones mortal, producida por *Paracoccidioides brasiliensis*, caracterizada por úlceras en la cavidad oral, laringe y nariz. Otros efectos son: ganglios linfáticos grandes y supurativos, tos, disnea*, pérdida de peso y lesiones cutáneas, genitales e intestinales. La enfermedad se adquiere por la inhalación de las esporas del hongo.
- **PARESTESIA*** **Inglés: parestesia.** Cualquier sensación subjetiva, experimentada como entumecimiento, hormigueo o sensación de "pinchazos". Cuando se experimenta en las extremidades, a veces se

denomina acroparestesia.

- **PARONIQUIA*** **Inglés: paronychia.** Infección del pliegue cutáneo situado en el borde de la uña. El tratamiento consiste en la aplicación de compresas o baños calientes, antibióticos y, posiblemente, incisión quirúrgica y drenaje.
- **PATOGENICIDAD*** **Inglés: pathogenicity.** Relativo a la capacidad de un agente patógeno* para producir una enfermedad.
- **PATÓGENO OPORTUNISTA*** **Inglés: opportunistic pathogen.** Organismo que existe en forma inofensiva formando parte del ambiente del cuerpo humano y no se convierte en una amenaza para la salud hasta que fracasa el sistema inmunitario corporal.
- **PATÓGENO*** **Inglés: pathogen.** Todo microorganismo capaz de producir enfermedad.
- **PATOLÓGICO*** **Inglés: pathologic.** Relativo a un trastorno que está causado por o en el que interviene una enfermedad.
- **PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD*** Ver: **PERFIL*** y **SUSCEPTIBILIDAD***
- **PERFIL*** **Inglés: profile.** Breve boceto, diagrama o resumen relacionado con una persona o cosa.
- **PIELONEFRITIS** **Inglés: pyelonephritis.** Infección piógena difusa de la pelvis y del parénquima renal. La pielonefritis* aguda se suele producir como consecuencia de una infección que asciende desde el tracto urinario inferior hasta el riñón. La pielonefritis* crónica se desarrolla lentamente después de una infección bacteriana del riñón, pudiendo evolucionar hacia una insuficiencia renal. La mayor parte de los casos se asocia a alguna forma de obstrucción, como un cálculo o una estenosis del uréter.
- **PIÓGENO*** **Inglés: pyogenic.** Que produce pus.
- **PITIRIASIS*** **Inglés: pityriasis.** Grupo de enfermedades de la piel que tienen en común lesiones que se parecen a las escamas de la caspa sin que existan signos evidentes de inflamación.
- **POLISACÁRIDO*** **Inglés: polysaccharide.** Carbohidrato que contiene tres o más moléculas de carbohidratos simples. Las dextrinas, almidones, glucógenos y pentosas son ejemplos de polisacáridos*.
- **POLIURETANOS*** **Inglés: polyuretanes.** Polímero de carbamatos (uretanos)*.
- **PROCESO*** **Inglés: process.** 1. serie de acontecimientos relacionados entre sí que se suceden consecutivamente desde un estado o situación

- determinados hasta la conclusión o la resolución. 2. crecimiento natural que sobresale de un hueso o de otra parte.
- **PROFÁRMACO*** Fármaco que al pasar por el hígado sufre una biotransformación que altera su estructura química, provocando o incrementando su actividad biológica. Aproximadamente el 10% de los principios activos son profármacos.
 - **PROSTATITIS*** **Inglés: prostatitis.** Inflamación aguda o crónica de la glándula prostática, habitualmente como consecuencia de una infección. El paciente se queja de quemazón, polaquiuria y urgencia.
 - **PRURITO*** **Inglés: pruritos.** Síntoma consistente en picor, sensación incómoda que provoca la necesidad urgente de rascarse. Con frecuencia el rascado provoca infecciones secundarias. Algunas causas de prurito* son las alergias, infecciones, ictericia, linfomas y la irritación cutánea.
 - **PSEUDOMICELIO*** Falso micelio.
 - **QUERATÓLISIS*** **Inglés: keratholysis.** Pérdida de cohesión y desprendimiento de la capa más externa de la piel, que se produce normalmente por exfoliación o por un trastorno congénito en el que la piel se descama periódicamente.
 - **QUITINA*** **Inglés: quitine.**
 - **RASH*** Ronchitas pequeñas y rojas (como mini barritos).
 - **RECIDIVA*** **Inglés: Relapse.** Reparición de una enfermedad más o menos tiempo después de transcurrido un tiempo de salud completa, por ejemplo en los tumores.
 - **RESPUESTA HUMORAL*** **Inglés: humoral response.** Una de las numerosas reacciones de hipersensibilidad. Las respuestas humorales están mediadas por los linfocitos B y aparecen en las reacciones de hipersensibilidad tipos I, II y III.
 - **SALPULLIDO*** Erupción cutánea de granitos o ronchas.
 - **SAPROFITO*** **Inglés: saprophyte.** Organismo que vive de materia orgánica muerta.
 - **SINDACTILIA*** **Inglés: syndactyly.** Anomalía congénita caracterizada por la fusión de los dedos de las manos o de los pies.
 - **SUSCEPTIBILIDAD*** **Inglés: susceptibility.** Calidad de ser más vulnerable de lo normal a una enfermedad o trastorno.
 - **TAQUICARDIA*** **Inglés: tachycardia.** Trastorno en el que el miocardio se contrae de forma regular pero a una frecuencia superior a 100 latidos por minuto. La frecuencia cardíaca se acelera normalmente en respuesta a

la fiebre, al ejercicio o a la excitación nerviosa. La taquicardia* patológica aparece en la anoxia, como en la causada por la anemia, insuficiencia cardíaca congestiva, hemorragia o en el shock. La taquicardia* actúa aumentando la cantidad de oxígeno aportada a las células del cuerpo, incrementando la sangre que circula a través de los vasos.

- **TAQUIPNEA*** **Inglés: tachypnea.** Aumento anormal de la frecuencia respiratoria, como la que aparece en la hiperpirexia.
- **TAXONOMÍA*** **Inglés: taxonomy.** Sistema de clasificación de organismos basado en las relaciones naturales y en la asignación de un nombre apropiado a cada uno.
- **TERAPIA*** **Inglés: therapy.** Tratamiento de cualquier enfermedad o trastorno, como la terapia* por inhalación, en la que se administran varios medicamentos a pacientes que sufren enfermedades del tracto respiratorio.
- **TIÑA*** **Inglés: tinea.** Grupo de enfermedades cutáneas micóticas causadas por dermatofitos de varias clases, caracterizadas por prurito*, descamación y, a veces, lesiones dolorosas. La tiña* es un término general que se refiere a infecciones de diversas causas, que se observan en diferentes localizaciones; el tipo específico generalmente viene designado por un sufijo.
- **TISULAR*** Referente a tejido
- **TRICOMICOSIS*** **Inglés: trichomycosis.** Afección de los pelos o cabellos causada por hongos parásitos.
- **TROMBOCITOPENIA*** **Inglés: thrombocytopenia.** Trastorno sanguíneo en el que el número de plaquetas está disminuido, habitualmente por la destrucción del tejido eritroide en la médula ósea asociada a ciertas enfermedades neoplásicas o a una respuesta inmune frente a un fármaco. Puede existir disminución de la producción de plaquetas, disminución de la supervivencia de las plaquetas, aumento del consumo de plaquetas y esplenomegalia. La trombocitopenia* es la causa más común de enfermedad hemorrágica.
- **UBICUO*** **Inglés: ubiquitous.** 1. Que esta o puede estar e todas partes 2. Dícese de una persona muy activa
- **URETANOS*** Sinónimo de Carbamatos
- **URETRITIS*** **Inglés: urethritis.** Trastorno inflamatorio de la uretra que se caracteriza por disuria, generalmente secundario a una infección de la vejiga o de los riñones.

- **VESÍCULA*** **Inglés: vesicle.** Ampolla o vejiga pequeña, en forma de pequeña lesión cutánea elevada de paredes finas, que contiene un líquido transparente.
- **XENOBIÓTICOS*** **Inglés: xenobiotic.** Relacionado con sustancias orgánicas extrañas al organismo, como fármacos o tóxicos orgánicos.

ANEXOS

1. ACABA CON LOS HONGOS ¹⁹⁴

En el mundo se conocen actualmente 300,000 tipos de hongos*, afortunadamente, sólo unos 100 de ellos constituyen agentes patológico*s. Estos últimos pueden atacar la piel, el pelo y las uñas transformando su aspecto de forma visible. A esta enfermedad se le conoce como micosis*.

La micosis* se desarrolla cuando la piel tiene contacto con el hongo y este logra penetrar la superficie cutánea. Existen condiciones que pueden favorecer su desarrollo:

- Heridas en la piel.
- Prendas que bloquean la circulación del aire (como medias de material sintético).
- Zapatillas de gimnasia, botas de goma, zapatos de material sintético.
- Un sistema inmunológico débil.
- Enfermedades metabólicas, tales como la Diabetes mellitus.
- Trastornos circulatorios.
- Deficiencias alimenticias.
- Carencia de vitaminas (hipovitaminosis).
- Tratamiento con ciertos medicamentos tales como antibióticos y fármacos anovulatorios (píldoras anticonceptivas).
- Obesidad.

Los pies son los que corren el mayor riesgo de contagio, sobre todo la zona entre los dedos, ya que es cálida y húmeda a la vez. El riesgo aumenta cuando se utilizan medias o zapatos de material sintético que acumulan el calor.

Si la micosis* no es tratada adecuadamente puede traer graves consecuencias, el hongo puede infectar la zona cutánea que está alrededor y diseminarse por otras partes del cuerpo, como las uñas de los pies (Onicomycosis). También podría generar dermatosis por la irritación o facilitar el ataque de otros agentes infecciosos (como bacterias) debido a la insuficiente protección de la piel.

Los primeros síntomas de micosis* se pueden manifestar de la siguiente manera:

- Enrojecimiento y alteraciones de la piel de forma oval o redonda y algo descolorida en el centro, con bordes escamosos y propensión a ensancharse.
- Forúnculos, particularmente en la zona de la barba.
- Grietas y asperezas en los dedos y en las zonas interdigitales de los pies.
- Pigmentación cutánea y decoloramiento de las uñas.
- Picazón

Para favorecer el éxito de la terapia* y evitar futuras infecciones hay algunas pautas que se deben seguir:

- La higiene rigurosa es muy importante, sobre todo en las partes del cuerpo en que se acumula el sudor como las zonas interdigitales de los pies, y todas las arrugas y pliegues en la piel.
- Es recomendable una ducha diaria y prestar especial cuidado al secarse, ya que los hongos* necesitan humedad para su generación y diseminación.
- Es necesario tener mucho cuidado si se va a utilizar una ducha ajena, sobre todo en clubes y playas, recuerde siempre utilizar sandalias para ducharse.
- Se debe lavar, ventilar y secar cualquier rejilla de madera, alfombra y esteras de baño, así como alfombrillas antideslizantes que se colocan en la ducha o bañera, ya que representan lugares perfectos para el crecimiento de los hongos*. También se acomodan sin problema en objetos como: toallas de baño, toallitas de tocador, paños para la cara, manoplas higiénicas y ropa de cama.
- Todas las prendas que hayan estado en contacto con el hongo, se deben lavar en agua caliente.
- Al elegir la ropa, hay que evitar prendas que bloqueen la circulación y las que estén hechas de material sintético, particularmente medias y zapatos, ya que el material sintético acumula calor y produce sudoración.
- Evite rascarse, por molesta que sea la picazón porque esto facilita la dispersión del hongo y la transmisión a otras partes del cuerpo, y podría generar infecciones bacterianas que dificultarían y prolongarían el tratamiento.
- El cuidado debe intensificarse en los meses de verano ya que la transpiración aumenta debido al calor. Las visitas a la playa o a una piscina también incrementan el riesgo de contagio porque por lo general las personas permanecen mucho tiempo con prendas húmedas puestas, además de caminar descalzos por zonas posiblemente infectadas dado el alto nivel de humedad.

El tratamiento contra la micosis* es siempre muy prolongado. Para que la infección fúngica** se pueda curar por completo, es necesario utilizar un antimicótico (sustancia contra hongos* patógenos) siguiendo al pie de la letra las indicaciones de su médico y por el plazo que éste determine.

Existen antimicóticos de uso tópico que se aplican directamente sobre la zona afectada (pomada, soluciones, polvos), y antimicóticos por vía oral, que se administran en forma de tabletas. El método de tratamiento depende del tipo de agente patógeno*. El objetivo de los antimicóticos es frenar lo más rápido posible el crecimiento del hongo, para evitar su dispersión. Simultáneamente se deben tratar las molestias adicionales como dolor, escozor, Enrojecimiento o posibles infecciones bacterianas.¹⁹⁴

2.- MEDICAMENTOS ANTIMICÓTICOS DISPONIBLES EN NUESTRO PAIS.

Tabla 15
Medicamentos antimicóticos disponibles
en México, de acuerdo al PLM 2003 ¹¹¹

PRODUCTO	PRESEN- TACIÓN	PRINCIPIO ACTIVO	LABORATORIO
AMPHOCIL	Fco. ampula	Anfotericina B	LEMERY
LAMISIL	Comprimidos	Clorhidrato de Terbinafina	NOVARTIS
NEOFOMIRAL	Cápsulas	Fluconazol	SILANES
OXIFUNGOL	Cápsulas	Fluconazol	ARMSTRONG
ZOLDICAM	Crema	Fluconazol	RAYERE
GRISOVIN	Tabletas	Griseofulvina	GLAXO- WELLCOME
ERGOSPHARMA	Tabletas	Itraconazol	ALPHARMA
IMAZOL	Cápsulas	Itraconazol	IVAX
ISOPORUM	Cápsulas	Itraconazol	DIBA
ISOX	Cápsulas	Itraconazol	SENOSIAIN
ITRANAX	Cápsulas	Itraconazol	CILAG
SINOZOL	Cápsulas	Itraconazol	BEST
SPORANOX 15D	Cápsulas	Itraconazol	JANSSEN
SPORANOX 3D	Cápsulas	Itraconazol	JANSSEN
AKORAZOL	Tabletas	Ketoconazol	COLLINS
CONAZOL	Crema	Ketoconazol	LIOMONT
FUNGORAL	Crema, Shampoo, Tabletas	Ketoconazol	JANSSEN-CILAG
KONADERM	Polvo	Ketoconazol	ICN
KONATURIL	Tabletas	Ketoconazol	IQFA

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

PRODUCTO	PRESENTACIÓN	PRINCIPIO ACTIVO	LABORATORIO
MYCODIB	Crema, Susp, Tabletas	Ketoconazol	DIBA
NASTIL	Tabletas	Ketoconazol	BEST
NIZORAL	Cre, Gel, Susp, Tabs, Ovs	Ketoconazol	JANSSEN-CILAG
ONOFIN-K	Tabletas	Ketoconazol	RAYERE
REMECON	Crema	Ketoconazol	REP.MEX-AMERICA
TERMIZOL	Crema, Tabletas	Ketoconazol	IVAX
TINIAZOL	Crema, Óvulos	Ketoconazol	LIFERPAL
FEMISAN	Tabletas	Ketoconazol y Clindamicina	GROSSMAN
FUNGICREM	Crema	Miconazol	ANDROMACO
ALOID	Crema	Nitrato de Miconazol	JANSSEN-CILAG
DAKTACORT	Crema	Nitrato de Miconazol	JANSSEN-CILAG
DAKTARIN	Gel	Nitrato de Miconazol	JANSSEN-CILAG
DERMIFUN	Crema	Nitrato de Miconazol	IVAX
LOTRIMIN AF	Polvo en aerosol, Polvo	Nitrato de Miconazol	SCHERING-PLOUGH
NEOMICOL	Crema, Sol.	Nitrato de Miconazol	PROD. MEDIX

3.- MATERIALES, REACTIVOS, INSTRUMENTALES Y EQUIPO.

5.1.1 Reactivos.

- Agar Dextrosa Papa (ADP) (Bioxon, Lote 05M11901, Caducidad: 05-Dic-04)
- Agar Dextrosa Saburoau (ADS) (Bioxon, Lote 17F94382, Caducidad: 17-Oct-03)
- Agar Selectivo para *Candida* según Nickerson (ASC) (Merck, Lote VL742956-135, Caducidad: 27-Ags-06)
- Dimetil Sulfóxido (DMSO) (CH₃)₂SO (Merck)
- Ácido 3-[N- morpholino] propanosulfónico (MOPS) (Sigma, Lote 1552-2310)
- RPMI 1640 con L- Glutamina sin Bicarbonato de Sodio (Sigma Cell Cultura Reagents)
- Agua Destilada
- Benzal
- Fenol
- Plasma Humano
- Solución Salina Fisiológica al 85% (SSF)
- Anfotericina B (Sigma-Aldrich)
- Ketoconazol (Liomont # de Análisis 1102072008)
- Nitrato de Miconazol (Liomont # de Análisis 10010578, Lote del Proveedor MIN0017)

- 21 Carbamatos (Sintetizados en el Laboratorio de Química Medicinal de Posgrado):
 - ✓ LQM 177
 - ✓ LQM 211
 - ✓ LQM 667
 - ✓ LQM 901
 - ✓ LQM 903
 - ✓ LQM 904
 - ✓ LQM 905
 - ✓ LQM 906
 - ✓ LQM 908
 - ✓ LQM 914
 - ✓ LQM 917
 - ✓ LQM 919
 - ✓ LQM 933
 - ✓ LQM 934
 - ✓ LQM 935
 - ✓ LQM 936
 - ✓ LQM 937
 - ✓ LQM 938
 - ✓ LQM 996
 - ✓ HSI
 - ✓ DGOA 1

5.1.2 Material Biológico.

- *Candida albicans*
- *Cryptococcus neoformans*
- *Candida albicans ATCC 10231*
- Ratones bebés

5.1.3 Instrumental.

- Cajas petri
- Cubreobjetos
- Gradilla
- Jeringa estéril de 20 ml
- Matraz volumétrico estéril de 50 ml
- Micropipetas de 5 a 50 μ l, 50 a 500 μ l y 100 a 1000 μ l.
- Papel filtro de 0.25 μ m de diámetro de poro
- Picetas
- Pipetas pasteur
- Pirinolas para esterilización por filtrado
- Placas de 96 pocillos en U
- Portaobjetos
- Tubos de ensaye
- Tubos de cultivo de 12 X 75 mm y 16 X 125 mm
- Tubos plásticos estériles de cultivo graduados
- Unicel

5.1.4 Equipo.

- Anteojos
- Autoclave (Felisa® Modelo FE-398)
- Balanza analítica (Sartorius-Werke® GMBH Modelo 2842)
- Balanza granataria (Harvardtrip® de 0.05 a 2 Kg)
- Campana de Flujo Laminar
- Centrifuga (Hettich Zentrifugen® Modelo Rotina352)
- Cubre bocas
- Espectrofotómetro (Tecan-GENion®)
- Guantes de Latex
- Incubadora (Morsa, Proveedor Científico, S.A.® Modelo EC-445)
- Agitador de Tubos (Tecan® Modelo 960063)
- Microscopio óptico
- Refrigerador
- Vortex (Vortex-2Genie® Modelo G-560)

4.- PRUEBAS DE INTERACCIÓN FARMACOLÓGICA.

Las **tablas 16 y 17** explican la forma en que las pruebas de interacción farmacológica de los antifúngicos pueden realizarse.

Tabla 16

Combinación de los LQM's con actividad biológica con el Antifúngico de Referencia para determinar si existe sinergismo o antagonismo.

LQM	AF	¼ MIC	½ MIC	MIC	2 MIC	4 MIC
¼ MIC		¼ MIC	½ MIC	MIC	2 MIC	4 MIC
		¼ MIC	¼ MIC	¼ MIC	¼ MIC	¼ MIC
½ MIC		¼ MIC	½ MIC	MIC	2 MIC	4 MIC
		½ MIC	½ MIC	½ MIC	½ MIC	½ MIC
MIC		¼ MIC	½ MIC	MIC	2 MIC	4 MIC
		MIC	MIC	MIC	MIC	MIC
2 MIC		¼ MIC	½ MIC	MIC	2 MIC	4 MIC
		2 MIC	2 MIC	2 MIC	2 MIC	2 MIC
4 MIC		¼ MIC	½ MIC	MIC	2 MIC	4 MIC
		4 MIC	4 MIC	4 MIC	4 MIC	4 MIC

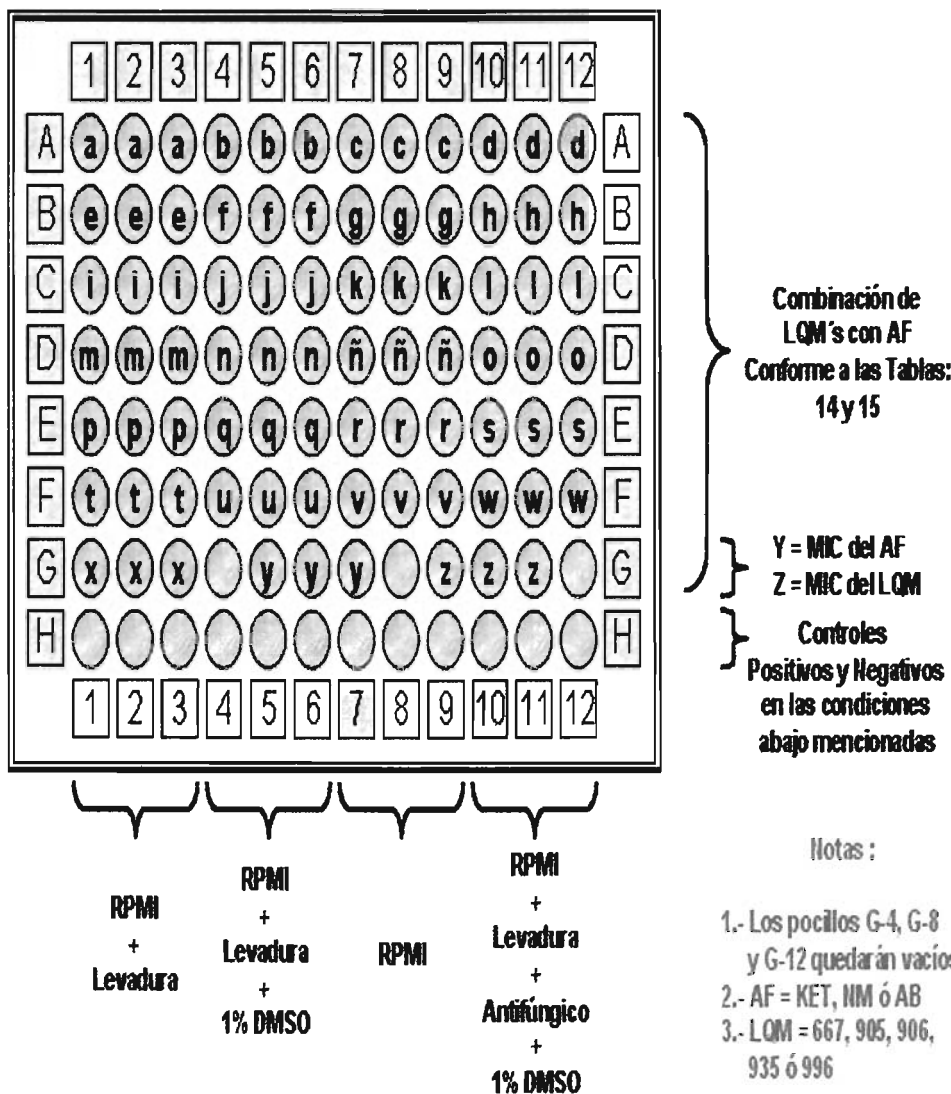
Tabla 17

Asignación de claves para cada una de las combinaciones de la **tabla 16** para el llenado de pozos conforme a la **figura 14**.

LQM	AF	¼ MIC	½ MIC	MIC	2 MIC	4 MIC
¼ MIC		a	b	c	d	e
½ MIC		f	g	h	i	j
MIC		k	l	m	n	ñ
2 MIC		o	p	q	r	s
4 MIC		t	u	v	w	x

Figura 14

Llenado de los pocillos de las microplacas con los antifúngicos, carbamatos y levaduras disueltos en RPMI para analizar las interacciones farmacológicas.



Tomando en cuenta que se tienen 3 antifúngicos de referencia y 5 carbamatos que presentaron actividad biológica contra las levaduras aquí estudiadas, en total quedarán 15 placas distintas para cada levadura (5 de **AB** con cada LQM, 5 de **KET** con cada LQM y 5 de **NMI** con cada LQM). Además debe considerarse que las pruebas han de realizarse por sextuplicado.

El **Figura 14** muestra como puede realizarse el llenado de las placas con la combinación de los antifúngicos y los carbamatos, 0.1 ml de la levadura (como se realizó para las placas anteriores), 0.05 ml del AF de referencia y 0.5 ml del carbamato probado (es importante considerar que la solución adicionada de estos dos compuestos deben encontrarse a una concentración 4 veces mayor a la concentración que tendrán finalmente en los pocillos de las placas).

11. REFERENCIAS

1. VARTIVARIAN, S.E.- Virulence properties and neoimmune pathogenic mechanism of fungi. Clin. Infect. Dis. 14(supp.1): S30-S36, 1992.
2. La Micología en America Latina
<http://caibco.ucv.ve/Vitae/VitaeDos/Articulos/Micologia/micologi.htm>
3. KWON-CHUNG, K.J & BENNETT; J.E.- Medical Micology. London, Philadelphia, p 886, 1992.
4. EC- Clearinghouse on oral problems related to VIH infections and WHO Collaborating Centre on oral manifestations of the immunodeficiency virus. Classification and diagnostic criteria for oral lesions in HIV infection. J Oral Pathol Med 1993;22:289-91.
5. SAMARANAYAKE LP, HOLMSTRUP P. Oral candidiasis and human immunodeficiency virus infection. J Oral Pathol Med.1989; 18: 554-64.
6. KOBAYASHI, G.S.; MEDOFF, G. SCHAEFER, MEDOFF, EISENTEIN y GUERRA. Introducción a los hongos y micosis en microbiología, mecanismos de las enfermedades infecciosas. 2 da Ed. Buenos Aires: Ed. Médica Panamericana. 46: 595-601, 1994.
7. ODDS, F.C.- Laboratory evaluation of antifungal agents a comparative study of five imidazole derivations of clinical importance. J. Antimicrob. Chemother. 6: 749-761. 1980.
8. ANAÏSSIE, E. - Opportunist mycoses in the immunocompromised host: experience at a cancer and review. Clin. Infect. Dis. 14 (Suppl. 1): S43-53, 1992.
9. FEBRÉ, N.; SILVA, V.; MEDEIROS, E.A.; WEY, S.B.; COLOMBO, A.L. and FISCHMAN, O.F.- Microbiological Characteristics of Yeasts Isolated from Urinary Tracts of Intensive Care Unit Patients, Undergoing Urinary Centralization. Journal of Clinic Microbiology, vol 37: 1584-1586, 1999.
10. DANIEL ALVARADO PÉREZ determinación del perfil de sensibilidad in vitro frente a antifúngicos en levaduras aisladas de micosis invasivas. Universidad De Chile, Facultad De Medicina, 2000.
11. <http://www.msd.com.mx/pacientes/sida/tesala01.htm>
12. METTA, H. A; CORTI, M. E; NEGRONI, R; HELOU, S; ARECHAVALA, A; SOTO, I; VILLAFÁÑE, M. F; MUZZIO, E; CASTELLO, T; ESQUIVEL, P; TRIONE, N. Criptococosis diseminada en pacientes con SIDA. Análisis clínico, microbiológico e inmunológico de 51 pacientes. Rev. argent. microbiol;34(3):117-123, jul.-sept. 2002.
13. MUKAE H; IWAMOTO M; KINOSHITA A; TAKASE T; MORI N; ISHINO T; KOHNO S; YAMAGUCHI K; HIRATA M; HARA K A case of sepsis and meningitis due to capsule-deficient *Cryptococcus neoformans* with SIADH. KANSENSHOGAKU ZASSHI. JOURNAL OF THE JAPANESE ASSOCIATION FOR INFECTIOUS DISEASES (1989 Oct)
14. POON M; CRONIN D C 2ND; WORMSER G P; BOTTONI E J In vitro susceptibility of *Cryptococcus neoformans* isolates from patients with acquired immunodeficiency syndrome. Department of Microbiology, Mount Sinai Medical Center, New York, NY 10029-6574 ARCHIVES OF PATHOLOGY AND LABORATORY MEDICINE (1988 Feb)
15. COTONE, C; LUCENTINI, M. O; PRADO, C. DEL; MATTERA, R. S; JAUREGUI RUEDA, H; TIRABOSCHI, NORA I. Criptococosis en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) Medicina (B. Aires);49(6):600-2, 1989.
16. SILVA, V.; CONCEICAO, M.O.; PIPOLO, E.M.; FISCHMANN, O.; COLOMBO, O.- Serotipificación y antibiograma de *C. albicans* aisladas de la cavidad oral de pacientes con AIDS, sus familiares y controles. In: XIV Congreso Chileno de Infectología, Santiago, Chile, C-45. 1998.
17. CEBALLOS, A.; GAITAN, L.A.; ORIHUELA, F.; OLEA, D.; CEBALLOS, L.; Y QUINDOS, G.- Resistencia «in vitro» a los antifúngicos en *Candida albicans* de pacientes infectados por el HIV y sin candidosis oral. Rev. Iberoam. Micol. 16 : 194-197, 1999.
18. ANGEL, A; ARANGO, L. A. SIDA y cirugía Rev. colomb. cir;11(3):256-261, sept. 1996
19. LEWIS RE, KLEPSER ME. The changing face of nosocomial candidemia: epidemiology, resistance, and drug therapy. Am J Health-Syst Pharm. 1999; 56: 525-36.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

20. JAWETZ, ERNEST; MELNICK, JOSEPH; ADELBERG, EDWARD Manual de microbiología médica. El Manual Moderno, S.A. MÉXICO, D.F. 2a. ED. 2ª. Reimpresión.
21. GARCÍA-POLA M.J., GARCÍA MARTÍN J.M., LÓPEZ J.S. Factores etiológicos del cancer oral. Rev. Europ. Odontoest. 3:103-110. 1991.
22. LIDOWA MS, WILLIAM GV, GOLDMAN-RABICB PS. The cerebral cortex: a case for a common site of action of antipsychotics. Trends Pharmacol Sci 1998;136-40.
23. KONEMAN, ELMER; ALLEN, STEPHEN; DOWEL, V.; JANDA, WILLIAM; SOMMERS, HERBERT; WINN, WASHINGTON Diagnóstico microbiológico. Texto y atlas a color. Ed. Panamericana México 1998.
24. BURDON, KENNETH L. & WILLIAMS, ROBERT P. Micobiología. Publicaciones Culturales S.A., Sexta Reimpresión, México, D.F. 1982.
25. PFALLER MA. Epidemiology and control of Fungal infections. Clin Infect Dis. 1994; 19(Suppl 1): S8-13.
26. ESPINOSA LÓPEZ FDO. ROGELIO. Terapéutica en Enfermedades Infecciosas. 3ª edición, México. 2003.
27. DE WYTT C N; DICKSON P L; HOLT G W Cryptococcal meningitis. A review of 32 years experience. JOURNAL OF THE NEUROLOGICAL SCIENCES (1982 Feb)
28. <http://www.funfic.org.ve/AJOENE.HTM>
- 29.
30. ARENAS R. Micología médica ilustrada. Interamericana. McGraw- Hill. 1993.
31. JARVIS WR. Epidemiology of nosocomial fungal infections, with emphasis on Candida species. Clin Infect Dis. 1995; 20: 1526-30.
<http://www.monografias.com/trabajos5/hiscla/hiscla2.shtml>
32. REMINGTON. Farmacología. Editorial Panamericana S.A., Tomo 2, 20ª Edición, Argentina. 2003.
33. LYNCH D.P. Oral Candidiasis: History, classification and clinical presentation. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 78:189-193. 1994.
34. QUIDOS G., PONTÓN J. Candidiasis de la cavidad oral: etiología Medicina Oral 2:21-31. 1996.
35. LAGUNA F., VERGARA A., BERENGUER J., SABALS P. Prevención de las infecciones por Candida. Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.13(2):15-19. 1954.
36. DEMBRY, L.M.; VASQUEZ, J.A.; ZERVOS,M.J.- DNA analysis in the study of the epidemiology of nosocomial candidiasis. Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 15: 48-53, 1994.
37. MAZER, D.G.; ALVARADO, C.J.;HASSMIR, C.A.; ZILZ, M.A.-Relation of the inanimated hospital environment to endemic nosocomial infection. N. Engl. J.Med. 307: 1562-1566, 1982.
38. KOIVIKKO, A.; KALIMO, K.; NIEMINEN, E.; AND VIANDER, M.- Relationship of immediate and delayed hypersensitivity to nasopharyngeal and intestinal growth of Candida albicans in allergic subjects. Allergy 43: 192-200, 1988.
39. NGUYEN N.T., LALONDE B. La candidiasis bucal. Diagnostico y tratamiento farmacológico. Rev. Eur. Odontoestomatología.
40. ODDS FC. Cándida and candidosis. London: Bailliere Tindall, 1988. 2ª205 edic.
41. CANNON R.D., HOLMES A.R., MANSON A.B., MONK B.C. Oral Candida: clearance, colonization, or candidiasis. J. Dent. Res.74(5):1152-1160. 1995.
42. FOTOS P.G. VINCENT S.D., HELLSTEIN J.W. Oral candidosis: Clinical, historical and therapeutic featur of 100 cases. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.74:41-49. 1992.
43. BASTIAN R.J., READE P.C. The prevalence of Candida alvbicans in the mouths of tobacco smokers with and without oral mucous menbrane keratoses Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 53:276-283.1982.
44. BASCONES A., MANSO, F.J. Infecciones orofaciales: Diagnóstico y tratamiento. Ed. Avances 1994.
45. LEWIS MAO, SAMARANAYAKE LP, LAMEY P-J.; Diagnosis and Treatment of Oral Candidosis. J Oral Maxillofac Surg 1991; 49: 996-10.
46. BAGÁN,SEBASTIAN J.V., CEBALLOS SALOBREÑA, A., BERREJO FENOLL, A., AGUIRRE URÍZAR, J.M., PEÑARROCHA ARROYO, M., Medicina Oral. Ed. Masson 1995.
- 47.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

48. AGUIRRE J.M., RIBACOBA I., LIPPERHEIDE V., ESPARZA G., BASCONES A., PONTÓN J., QUINDÓS G. Caracterización fenotípica de aislamientos de *Candida* de pacientes VIH+ con candidosis orofaríngea. Avances en Odontostomatología 12:23-30. 1996.
49. WENZEL RP. Nosocomial candidemia: risk factors and attributable mortality. Clin Infect Dis. 1995; 20: 1531-4.
50. PFALLER, M.A.; JONES, R.N.; DOERN, G.V.; SADER,H.S.; HOLLIS, R.J.; AND MESSER, S.A.; FOR THE SENTRY PARTICIPANT GROUP.- International Surveillance of Bloodstream Infections Due to *Candida* Species: Frequency of Occurrence and Antifungal Susceptibilities of Isolates Collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY Program. J. Clin. Microbiol. 36: 1886-1889, 1998.
51. BODEY, G.P.; BUETELMANN, B.; DUGOÏD, W.; GIBBS, D.; HANAK, H.; HOTCHL,M.; MALL, G.; MARTINO, P.; MEUNIER, F.; MILLIKEN, S.; NAE, S.; OKUDAIRA, M.; SCEVOLA, D., VAN'T, W.J.- Fungal infectionas in cancer patients: An international autopsy survey. Eur. J. Clin. Infect. Dis. 11: 99-109, 1992.
52. LEWIS RE, KLEPSE ME, PFALLER MA. Update on clinical antifungal susceptibility testing for *Candida* species. Pharmacother. 1998; 18: 509-15.
53. RECOMENDACIONES DEL CONSEJO ASESOR CLÍNICO DEL PLAN NACIONAL SOBRE EL SIDA, Diagnóstico y tratamiento de las Infecciones por hongos en pacientes infectados por el Virus de la Inmunodeficiencia Humana. Editorial Ministerio de Sanidad y Consumo, Plan Nacional sobre el SIDA, España, Numero 12, Febrero 1999.
54. WHITE, T.C.; MARR, K.A.; AND BOWDEN, R.A.- Clinical, cellular and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. Clin. Microbiol. Rev. 11: 382,402, 1998.
55. REX JH, PFALLER MA, RINALDI MG, POLAK A, GALGIANI JN. Antifungal susceptibility testing. Clin Microbiol Rev. 1993; 6: 367-81.
56. PANIZO, MERCEDES; VERA, REVIÁKINA. ¿Es el humano reservorio de *Cryptococcus neoformans*? Antibiot. infecc;9(3):85-89, jul.-sept. 2001.
57. GEORGOPAPADAKOU AND WALSH, N.H. Georgopapadakou and T.J. Walsh , Human mycoses: drugs and targets for emerging pathogens. Science 264 (1994), pp. 371-372.
58. CHINCHILLA, M; PARRA, C; ARIAS, K; CASTANEDA, E; FIORENTINO, S. Analisis de la produccion de IL-10 e IFN γ y de anticuerpos IgG en ratones susceptibles y resistentes a la infección por *Cryptococcus neoformans*. Rev. Asoc. Colomb. Alerg. Inmunol;8(3):68-68, sept. 1999.
59. ZHOU H, GOLDMAN M, WU J, WOESTENBORGH S, HASSELL AE, LEE P, ET AL. A pharmacokinetic study of intravenous itraconazole followed by oral administration of itraconazole capsules in patients with advanced human immunodeficiency virus infection. J Clin Pharmacol. 1998; 38: 593-602.
60. ARMSTRONG GL, CONN LA, PINNER RW. Trends in infectious disease mortality in the United States during the 20th century. JAMA 1999; 281: 61-66.
61. FERNANDES, ORIONALDA DE F. L; PASSOS, XISTO S; SOUZA, LÚCIA K. H; MIRANDA, ANDRÉ T. B; CERQUEIRA, CARLOS HENRIQUE P. V; SILVA, MARIA DO ROSÁRIO R. In vitro susceptibility characteristics of *Cryptococcus neoformans* varieties from AIDS patients in Goiânia, Brazil. Mem. Inst. Oswaldo Cruz;98(6):839-841, Sept. 2003.
62. NIEHAUS AND FLYNN, W.G. Niehaus and T. Flynn , Regulation of mannitol biosynthesis and degradation by *Cryptococcus neoformans*. J. Bacteriol. 176 (1994), pp. 651-655.
63. CALVO, B; COLOMBO, A; FISCHMAN, O; SANTIAGO, A; NUNES, F; BRANCHINI, M. Evaluation of the antifungal susceptibility and karyotype of *cryptococcus neoformans* isolated from clinical samples in Venezuela. Kasmera;28(3):115-131, dic. 2000.
64. LANGBERG C W; BARKVE H; TJORSTAD K *Cryptococcus neoformans* meningoencephalitis. TIDSSKRIFT FOR DEN NORSKE LAEGEFORENING (1984 May 20
65. PFALLER MA, WENZEL R. Impact of the changing epidemiology of fungal infections in the 1990s. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1992; 11: 287-91.

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

66. FROMTLING, ROBERT A.; ABRUZZO, GEORGE K.; BULMER, GLENN S. *Cryptococcus neoformans*: comparisons of in vitro antifungal susceptibilities of serotypes AD and BC. Dep. Basic Microbiol., Merck Inst. Therapeut. Res., Rahway, NJ, USA. Mycopathologia (1986)
67. FROMTLING R A; ABRUZZO G K; BULMER G S *Cryptococcus neoformans*: comparisons of in vitro antifungal susceptibilities of serotypes AD and BC. MYCOPATHOLOGIA (1986 Apr)
68. POONWAN, NATTEWAN; MIKAMI, YUZURU; POOSUWAN, SUWAN; BOON-LONG, JOTIKA; MEKHA, NANTHAWAN; KUSUM, MAYURA; YAZAWA, KATSUKIYO; TANAKA, REIKO; NISHIMURA, KAZUKO; KONYAMA, KAZUICHI. Serotyping of *Cryptococcus neoformans* strains isolated from clinical specimens in Thailand and their susceptibility to various antifungal agents Mycology Section, Division Clinical Pathology, Dep. Medical Sciences, National Inst. Health, Nonthaburi, Thailand. European Journal of Epidemiology (1997)
69. YAMADA Y; DEKIO S; JIDOI J; YOKOGI H; MORIKI S A case of cutaneous localized cryptococcosis. Department of Dermatology, Shimane Medical University NIPPON HIFUKA GAKKAI ZASSHI. JAPANESE JOURNAL OF DERMATOLOGY (1990 Feb)
70. SHINDO K Treatment of cryptococcal meningitis with five anti-fungal drugs: the role of amphotericin B. First Department of Internal Medicine, Yokohama City University School of Medicine, Japan DRUGS UNDER EXPERIMENTAL AND CLINICAL RESEARCH (1990)
71. PETROU, MICHAEL A.; SHANSON, DAVID C. Susceptibility of *Cryptococcus neoformans* by the NCCLS microdilution and Etest methods using five defined media. J. Antimicrob. Chemother., 46(5), 815-818 (English) 2000
72. GRANT, S.M.; AND CLISSOLD, S.D. - Itraconazole: A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, a therapeutic use in superficial and systemic mycosis. Drug. 37: 310-344, 1989.
73. CDC NNIS SYSTEM. NATIONAL NOSOCOMIAL INFECTION SURVEILLANCE (NNIS) System report, data summary from January 1990 – May 1999, issued June 1999. AJIC Am J Infect Control. 1999; 27: 520-32.
74. PINNER RW, TEUTSCH SM, SIMONSEN L, KLUG LA, GRABER JM, CLARKE MJ, ET AL. Trends in infectious disease mortality in the United States. JAMA 1996; 275: 189-93.
75. REES JR, PINNER RW, HAJJEH RA, BRANDT ME, REINGOLD AL. The epidemiological features of invasive mycotic infections in the San Francisco Bay Area, 1992 – 1993: results of a population-based laboratory active surveillance. Clin Infect Dis. 1998; 27: 1138-47.
76. KURTZ MB, DOUGLAS CM. Lipopeptide inhibitors of fungal glucan synthase. J Med Vet Mycol. 1997; 35: 79-86.
77. GRAYBILL, JOHN R.; MITCHELL, LINDA; LEVINE, HILLEL B. Treatment of experimental murine cryptococcosis: a comparison of miconazole and amphotericin B. Audie L. Murphy Mem. Veterans' Hosp., San Antonio, TX, USA. Antimicrobial Agents and Chemotherapy (1978)
78. UCHIDA K; MATSUZAKA A; AOKI K; YAMAGUCHI H In vitro antifungal activity of itraconazole, a new triazole antifungal agent, against clinical isolates from patients with systemic mycoses. Teikyo University Research Center for Medical Mycology JAPANESE JOURNAL OF ANTIBIOTICS (1991 May)
79. SHADOMY S; ESPINEL-INGROFF A; KERKERING T M In-vitro studies with four new antifungal agents: BAY n 7133, bifonazole (BAY h 4502), ICI 153,066 and Ro 14-4767/002. SABOURAUDIA (1984)
80. PERRY H D; DONNENFELD E D Cryptococcal keratitis after keratoplasty. Department of Ophthalmology, North Shore University Hospital, Manhasset, NY 11030 AMERICAN JOURNAL OF OPHTHALMOLOGY (1990 Sep 15)
81. BECK-SAGUE CM, JARVIS WR, NNISS. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980 – 1990. J Infect Dis. 1993; 167: 1247-51.
82. NIKAWA S; HARA A; NOKURA H; UNO T; OHKUMA A; YAMADA H Central nervous cryptococcosis giving rise to ascites after ventriculo-peritoneal shunting--a case report. Department of Neurosurgery, Prefectural Gifu Hospital, Japan NO SHINKEI GEKA. NEUROLOGICAL SURGERY (1988 Jun)

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

83. BAVA A J; NEGRONI R *In vitro* susceptibility of *Cryptococcus* strains to 5 antifungal drugs. REVISTA DO INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL DE SAO PAULO (1989 Sep-Oct)
 84. FUKUI K; OKAMURA K; WATANABE M; NAKAMURA S; YAMAMOTO M A case of cryptococcal meningitis successfully treated with miconazole and CSF drainage. KANSENSHOGAKU ZASSHI. JOURNAL OF THE JAPANESE ASSOCIATION FOR INFECTIOUS DISEASES (1989 Jun)
 85. FRANK R. LICHTENBERG, The Expanding Pharmaceutical Arsenal in the War on Cancer, National Bureau of Economic Research Working Paper No. 10328 Cambridge, MA: NBER, February 2004.
 86. J. BERGER, ET AL., Economic Impact of a Diabetes Disease Management Program in a Self-Insured Health Plan: Early Results, Disease Management, 4 2001: 2, 65-73.
 87. R.C. CADY, ET AL., Sumatriptan Injection Reduces Productivity Loss During a Migraine Attack: Results of a Double-Blind, Placebo-Controlled Trial, Archives of Internal Medicine, 158 (11 May 1998).
 88. FRANK R. LICHTENBERG, Benefits and Costs of Newer Drugs: An Update. Cambridge, MA: National Bureau of Economic Research, June 2002.
 89. Cholesterol Pill Linked to Lower Hospital Costs, The New York Times, March 27, 1995.
 90. REX, J.; CHESTER, R.; COOPER, J.R.; MERZ, C.R.; GALGANI, W.G.; AND ANAISSIE, E. J. Detection of amphotericin B resistant in *Candida* isolates a broth - based system. Antimicrobiological agents. Chemother. 39: 906-909, 1995.
 91. NATIONAL SCIENCE FOUNDATION, DIVISION OF SCIENCE RESOURCES STATISTICS, Survey of Industrial Research and Development: 2000 Arlington, VA: NSF, 2000.
 92. PA COWPER, ET AL., Economic Effects of Beta-Blocker Therapy in Patients with Heart Failure, The American Journal of Medicine, 116 2004: 2, 104-111.
 93. PE GREENBERG, ET AL., The Economic Burden of Depression in the United States: How Did It Change Between 1990 and 2000? Journal of Clinical Psychiatry, 64 2003: 1465-1475.
 94. E.H. WAGNER, ET AL., Effect of Improved Glycemic Control on Health Care Costs and Utilization, Journal of the American Medical Association, 285 2001: 2, 182-189.
 95. JW HILL, ET AL The Effect of Donepezil Therapy on Health Costs in a Managed Care Plan, Managed Care Interface, March 2002: 63-70.
 96. ZALL, MILTON; The Pricing Puzzle
<http://pubs.acs.org/subscribe/journals/mdd/v04/i03/html/03zall.html#auth>
 97. I.M. COCKBURN, ET AL., Loss of Work Productivity Due to Illness and Medical Treatment, Journal of Occupational and Environmental Medicine, 41 (1999): 11, 948-953.
 98. New and generic drug approvals: 1998 -2001. US Food and Drug Administration. [http:// www. fda. gov/ cder/ approval/ index. htm](http://www.fda.gov/cder/approval/index.htm)
 99. CDER HANDBOOK <http://www.cder.gov>
 100. <http://www.phrma.org/publications/policy/22.04.2004.982.cfm>
 101. <http://www.drscope.com/privados/pac/generales/onctox/toxicologia.html>
 102. DODDS ES, DREW RF, PERFECT JR. Antifungal pharmacodynamics: review of the literature and clinical applications. Pharmacother. 2000; 20(11): 1335-1355.
 103. DISMUKES WE. Introduction to Antifungal Drugs. Clin Infect Dis. 2000; 30: 653-7.
 104. BARCHIESI, F.A.L.; COLOMBO, D.A.; MCOUGH; AND M.G.; RINALDI. - Comparativ study of broth macrodilution and microdilution techniques for *in vitro* antifungal susceptibility testing of yeasts by usin the National Committee for Clinical Laboratory Standards proposed Standard. J.Clin. Microbiol. 32: 2494-2500, 1995.
 105. Drug information for the health care professional. USP DI ed. 13, Estados Unidos Americanos. United States Pharmacopeial Convention INC 1993:420-6.
 106. PFALLER MA, REX JH, RINALDI MG. Antifungal susceptibility testing: technical advances and potential clinical applications. Clin Infect Dis. 1997; 24: 776-84.
http://www.actahort.org/books/597/597_31.htm
 107. http://www.actahort.org/books/597/597_31.htm
 108. ANDRIOLE VINCENT T. Current and future anatifungal therapy: new targets for antifungal agents. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 44, 151 – 162. 1999.
-

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

109. VICTOR LORIAN, M. Antibiotics in laboratory medicine, Editorial Williams Wilkins Baltimore/ London. Capitulo 7. 1980.
 110. RUIZ SAENZ LERINA Prueba de susceptibilidad a derivados del ácido carbámico de *Aspergillus fumigatus* y *Trichophyton mentagrophytes*. TESIS Universidad Nacional Autónoma de México. 2004.
 111. PLM DIGITAL 2003
 112. OTCENASEK, MILOS; HAMACEK, FRANTISEK; VEJBORA, OLDRICH. Study on the sensitivity of yeast-like organisms to representatives of polyene antibiotics and imidazole derivatives *in vitro*. Parazitol. Ustav, CSAV, Prague, Czech. Sbornik Vedeckych Praci Lekarske Fakulty Univerzity Karlovy v Hradci Kralove (1983)
 113. INDEX MERK DIGITAL 2001
 114. USP XXI
 115. ELLIS, D.; JARVINEN, A.; HANSMAN, D. Effect of pH on *in vitro* antifungal drug sensitivity testing. Dep. Microbiol., Adelaide Child. Hosp., North Adelaide, Australia. Editor(s): Ishigami, Joji. Recent Adv. Chemother., Proc. Int. Congr. Chemother., 14th (1985)
 116. GOODMAN A. Las bases farmacológicas de la terapéutica. ed. 8, España, Editorial Médica Panamericana 1993:176-93.
 117. COHEN, H.; BENJAMIN, J.; KAPLAN, Z.; KOTLER, M. Administration of high-dose ketoconazole, an inhibitor of steroid synthesis, prevents posttraumatic anxiety in an animal model. Eur. Neuropsychopharmacol., 10(6), 429-435 (English) 2000
 118. SHIMOKAWA, OSAMU; NAKAYAMA, HIROAKI Estimation of minimum sterol 14 α -demethylation-inhibitory concentration of azoles in *Candida* yeasts using acetate-mediated growth inhibition: potential utility in susceptibility testing. J. Clin. Microbiol., 38(8), 2893-2896 (English) 2000
 119. EMOTO, C.; YAMAZAKI, H.; YAMASAKI, S.; SHIMADA, N.; NAKAJIMA, M.; YOKOI, T. Characterization of cytochrome P450 enzymes involved in drug oxidations in mouse intestinal microsomes. Xenobiotica, 30(10), 943-953 (English) 2000
 120. BRUCE, JASON I. E.; ELLIOTT, AUSTIN C. Pharmacological evaluation of the role of cytochrome P450 in intracellular calcium signaling in rat pancreatic acinar cells. Br. J. Pharmacol., 131(4), 761-771 (English) 2000
 121. MEEKER, TIMOTHY C.; SIEGEL, MARTIN S.; SHIOTA, FAITH M.; CROWLEY, JOHN J.; MCGUFFIN & ROBERT W. Toxicity of Amphotericin B, Miconazole Nitrate, and Ketoconazole to human granulocyte progenitor cells *in vitro*. Antimicrobial Agents Chemotherapy. 23 (1), 169 -71. 1983.
 122. TURNIDGE J D; GUDMUNDSSON S; VOGELMAN B; CRAIG W A The postantibiotic effect of antifungal agents against common pathogenic yeasts. Department of Infectious Diseases and Microbiology, Monash Medical Centre, Clayton, Victoria, Australia JOURNAL OF ANTIMICROBIAL CHEMOTHERAPY (1994 Jul)
 123. RAMOS, L.; BRIGNOL, N.; BAKHTIAR, R.; RAY, T.; MCMAHON, L. M.; TSE, F. L. S. High-throughput approaches to the quantitative analysis of ketoconazole, a potent inhibitor of cytochrome P450 3A4, in human plasma. Rapid Commun. Mass Spectrom., 14(23), 2282-2293 (English) 2000
 124. CHEN, RONG-JANE; LEE, WEN-SEN; LIANG, YU-CHIH; LIN, JEN-KUN; WANG, YING-JAN; LIN, CHIEN-HUANG; HSIEH, JUI-YING; CHAING, CHIU-CHIN; HO, YUAN-SOON Ketoconazole induces G0/G1 arrest in human colorectal and hepatocellular carcinoma cell lines. Toxicol. Appl. Pharmacol., 169(2), 132-141 (English) 2000
 125. CUPP-VICKERY, JILL R.; GARCIA, CARLOS; HOFACRE, ANDY; MCGEE-ESTRADA, KATHLEEN Ketoconazole-induced Conformational Changes in the Active Site of Cytochrome P450eryF. J. Mol. Biol., 311(1), 101-110 (English) 2001
 126. SAMARANAYAKE, Y. H.; SAMARANAYAKE, L. P.; TSANG, P. C.; WONG, K. H.; YEUNG, K. W. S. Heterogeneity in antifungal susceptibility of clones of *Candida albicans* isolated on single and sequential visits from a HIV-infected southern Chinese cohort. J. Oral Pathol. Med., 30(6), 336-346 (English) 2001
 127. CHOU, SHUO-CHI; LIN, JEN-DER Long-term effects of ketoconazole in the treatment of residual or recurrent cushing's disease. Endocr. J.(Tokyo), 47(4), 401-406 (English) 2000
-

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

128. TURNIDGE, J. D.; GUDMUNDSSON, S.; VOGELMAN, B.; CRAIG, W. A. The postantibiotic effect of antifungal agents against common pathogenic yeasts. Dep. Infect. dis. Microbiol., Monash Med. Cent., Clayton, Australia. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* (1994)
 129. SUZUKI, S.; KURATA, N.; NISHIMURA, Y.; YASUHARA, H.; SATOH, T. Effects of imidazole antimycotics on the liver microsomal cytochrome P450 isoforms in rats: comparison of *in vitro* and *ex vivo* studies. *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.*, 25(2), 121-126 (English) 2000
 130. MARR, KIEREN A.; LYONS, CHRISTOPHER N.; HA, KIEN; RUSTAD, TIGE R.; WHITE, THEODORE C. Inducible azole resistance associated with a heterogeneous phenotype in *Candida albicans*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 45(1), 52-59 (English) 2001
 131. SEIDEGARD, JANERIC Reduction of the inhibitory effect of ketoconazole on budesonide pharmacokinetics by separation of their time of administration. *Clin. Pharmacol. Ther. (St. Louis)*, 68(1), 13-17 (English) 2000
 132. ODDS, F. C. Interactions among amphotericin B, 5-fluorocytosine, ketoconazole, and miconazole against pathogenic fungi *in vitro*. Dep. Microbiol., Univ. Leicester, Leicester, UK. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* (1982)
 133. ODDS F C Interactions among amphotericin B, 5-fluorocytosine, ketoconazole, and miconazole against pathogenic fungi *in vitro*. *ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY* (1982 Nov)
 134. DUPONT, B.; DROUHET, E. *In vitro* synergy and antagonism of antifungal agents against yeast-like fungi. *Serv. Mycol., Inst. Pasteur, Paris, Fr. Postgraduate Medical Journal* (1979)
 135. PALACIN, C.; TARRAGO, C.; AGUT, J.; GUGLIETTA, A. *In vitro* activity of sertaconazole, fluconazole, ketoconazole, fenticonazole, clotrimazole and itraconazole against pathogenic vaginal yeast isolates. *Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol.*, 23(2), 61-64 (English) 2001
 136. SAWAE, YOSHIRO; OKADA, KAORU; KUMAGAI, YUKIO. Laboratory and clinical study of intravenous miconazole. *Fac. Med., Kyushu Univ., Fukuoka, Japan. Japanese Journal of Antibiotics* (1987)
 137. MIKAMI, YUZURU; YAZAWA, KATSUKIYO; UNO, JUN; NISHIMURA, KAZUKO; KANNO, HARUSHIGE. Comparison of antifungal activity of amphotericin B, miconazole, itraconazole, flucytosine and fluconazole against clinically isolated *Cryptococcus neoformans* by minimum inhibitory concentration (MIC) and 50% inhibitory concentration of growth (IC50) values and their combination effects. *Res. Cent. Pathog. Fungi and Microb. Toxicoses, Chiba Univ., Chiba, Japan. Chemotherapy (Tokyo)* (1991)
 138. HIRATANI, TAMIO; YAMAGUCHI, HIDEYO. Laboratory assessment of a systemic antimycotic miconazole (base): *in vitro* activity. *Sch. Med., Teikyo Univ., Tokyo, Japan. Chemotherapy (Tokyo)* (1984)
 139. YASUI, KOZO; MASUDA, MIDORI; MATSUOKA, TAKAFUMI; YAMAZAKI, MUNEHIRO; KOMIYAMA, ATSUSHI; AKABANE, TARO, MURATA & KENJIRO. Miconazole Nitrate and Amphotericin B alter polymorphonuclear leukocyte functions and membrane fluidity in similar fashions. *Antimicrobial Agents Chemotherapy*. 32 (12), 1864 - 1988. 1988.
 140. SAWAE Y; OKADA K; KUMAGAI Y Laboratory and clinical study of intravenous miconazole. *Japanese Journal Of Antibiotics* (1987 Feb)
 141. LEVY, MENASHE Y.; POLACHECK, ITZHACK; BARENHOLZ, YECHEZKEL; BENITA, SIMON. Efficacy evaluation of a novel submicron miconazole emulsion in a murine Cryptococcosis model. *Dept. Pharm., Hebrew Univ. Jerusalem, Jerusalem, Israel. Pharmaceutical Research* (1995)
 142. LEVY M Y; POLACHECK I; BARENHOLZ Y; BENITA S Efficacy evaluation of a novel submicron miconazole emulsion in a murine cryptococcosis model. *Department of Pharmacy, School of Pharmacy, Hebrew University of Jerusalem, Israel. PHARMACEUTICAL RESEARCH* (1995 Feb)
 143. YOSHIZUMI M. O., VINCI V., FONG & KARYN D. Toxicity of intravitreal Miconazole Nitrate in DMSO. *Journal of Toxicology*. 6(1), 19-27. 1987.
 144. RAMÍREZ CRUZ CATALINA Evaluación de la actividad *in vitro* de derivados del 4- Nitroisoxazoles sobre trofozoitos de *Giardia duodenalis*. TESIS Universidad Nacional Autónoma de México. 2003.
-

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

145. ANONYMOUS Treatment of cryptococcosis. LANCET (1979 Jul 21), 2(8134), 132-3. Journal code: 2985213R. ISSN:0140-6736.
 146. GRAYBILL J R; MITCHELL L; LEVINE H B Treatment of experimental murine cryptococcosis: a comparison of miconazole and amphotericin B. ANTIMICROBIAL AGENTS AND CHEMOTHERAPY (1978 Feb)
 147. SANDEEP SAXENA, JUNAID A. KHAN & PRAHLAD C. GHOSH. Toxicity and therapeutic efficacy of Amphotericin B delivered through cholesterol hemisuccinate vesicles in the treatment of experimental murine aspergillosis. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 42: 635-642. 1998.
 148. LUBER ANDREW D, MAA LUCY, LAM MINH & GUGLIELMO JOSEPH B. Risk Factors for Amphotericin B-induced nephrotoxicity. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 43: 267-271. 1999.
 149. BATES DW, SU L, YU DT, CHERTOW GM, SEGER DL, GOMES DRJ, ET AL. Mortality and costs of acute renal failure associated with amphotericin B therapy. Clin Infect Dis. 2001; 32: 686-93.
 150. WINGARD JR, KUBILIS P, LEE L, YEE G, WHITE M, WALSH L, ET AL. Clinical significance of nephrotoxicity in patients treated with amphotericin B for suspected or proven aspergillosis. Clin Infect Dis. 1999; 29: 1402-7.
 151. WONG-BERINGER A, JACOBS RA, GUGLIELMO BJ. Lipid formulations of amphotericin B: clinical efficacy and toxicities. Clin Infect Dis. 1998; 27: 603-18.
 152. SANTILLÁN ORTEGA ODILÓN ABRAHAM. Síntesis de Carbamatos a partir de Aminas Aromáticas. TESIS., UNAM, FES Cuautitlán, México, 1993.
 153. ARRATIA QUIJADA JENNY Estudio del Daño al ADN en Células de Estómago de Ratón Administrado con los Derivados Carbámicos LQM 919 y LQM 996. TESIS., UNAM, FES Cuautitlán, México, 2004.
 154. NÁJERA MARTÍNEZ MARÍA DEL ROCÍO. Efectos carcinogénicos de los insecticidas de uso permitido en México. Revisión bibliográfica. TESIS., UNAM, FES Cuautitlán, México, 1995.
 155. AQUILONIUS M, ASKMARK H, ECKERRIÁS S, GILLBERG P, HILTON-BROWN P, RYDIN E, STALBERG E. Cholinesterase inhibitor lack therapeutic effect in amyotrophic lateral sclerosis. A controlled study of physostigmine versus neostigmine. Acta Neurol Scand 1986;73:628-32.
 156. GUERRERO OLEA J. Determinación de la concentración mínima inhibitoria de nuevos derivados del ácido carbámico contra Helicobacter pylori. TESIS Universidad Nacional Autónoma de México. 2002.
 157. NÚÑEZ L. Acción anticolinesterásica de extractos obtenidos de dos especies de celenterados. Trabajo de Diploma UH-UNIFUNCE, 1985
<http://www.drscope.com/privados/pac/generales/onctox/toxicologia.html>
 159. GONZÁLEZ RA, JÚZTIZ E, ABASCAL ME, BELLO JL. Estudios del efecto anticolinesterásico del ditiocarbamato 43G040 en ratones, ratas y perros. Rev Cub Oncol 1989;5:239-49.
 160. VACCARI A, SABA PL, RUIN S, COLLU M, DEVOTO P. Disulfiram and diethyldithiocarbamate intoxication affects the storage and release of striatal dopamine. Toxicol Appl Pharmacol 1996;139:102-8.
 161. MÁRQUEZ BECERRA MARÍA DEL PILAR Actividad genotóxica de cuatro derivados carbámicos en ratón y análisis de la relación de dicho efecto en su estructura química. Instituto Politécnico Nacional. 2002.
 162. SALOMOM Z, LANGERA B, SCATTONA H, REINA W. Mechanism of action and therapeutic efficacy of amisulpride. Trends Pharmacol Sci 1998;19:128-30.
 163. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. M-27A. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Villanova, Pa, 1997.
 164. CARRILLO-MUÑOZ AJ, DEL VALLE O, TUR-TUR C, et al. Determinación mediante el sistema sensititre® de la sensibilidad in vitro a los antifúngicos en levaduras de interés clínico. Rev Esp Quimioter 1999;12:126-135.
 165. PFALLER MA, BARRY AL. Evaluation of a novel colorimetric broth microdilution method for antifungal susceptibility testing of yeasts isolates. J Clin Microbiol 1994;32:1992-1996.
-

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

166. PFALLER MA, VU Q, LANCASTER M, et al. Multisite reproducibility of colorimetric broth microdilution method for antifungal susceptibility testing of yeasts isolates. J Clin Microbiol 1994;32:1625-1628.
 167. SWINNE D, RAES-WUYTACK C, VAN LOOVEREN K, DESMET P. Comparative evaluation of Fungitest, NeoSensitabs and M27-A NCCLS broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. Mycoses 1999;42:231-237.
 168. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. 1998. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of conidium forming filamentous fungi. Proposed standard M38-P. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, Pa. 1998.
 169. CARRILLO-MUÑOZ AJ, ABARCA-SALAT L, QUINDOS-ANDRES G. Métodos de estudio de la sensibilidad a los antifúngicos. I. Factores y variables que influyen en su realización en el laboratorio. Rev Iberoam Micol 1994;11:105-110.
 170. REX JH, PFALLER MA, RINALDI MG, POLAK A, GALGIANI JN. Antifungal susceptibility testing. Clin Microbiol Rev 1993;6:367-381.
 171. MESSER SA, PFALLER MA. Clinical evaluation of a dried commercially prepared microdilution panel for antifungal susceptibility testing. Diagn Microbiol Infect Dis 1996;25:77-81.
 172. ARIKAN S, GUR D, AKOVA M. Comparison of Etest, microdilution and colorimetric dilution with reference broth macrodilution method for antifungal susceptibility testing of clinically significant *Candida* species isolated from immunocompromised patients. Mycoses 1997;40:291-296.
 173. PEMAN GARCIA J, CANTON-LACASA E. Las pruebas de sensibilidad antifúngica en un laboratorio de microbiología clínica. Rev Esp Quimioter 1996;9:17-20.
 174. POSTERARO B, ROMANO L, SANGUINETTI M, MORACE G, FADDA G. Commercial systems for fluconazole susceptibility testing of yeasts: Comparison with the broth microdilution method. Diagn Microbiol Infect Dis 2000;38:29-36.
 175. ESPINEL-INGROFF A, PFALLER M, MESSER SA, et al. Multicenter comparison of the Sensititre yeast one colorimetric antifungal panel with the National Committee for clinical laboratory standard M27-A reference method for testing clinical isolates of common and emerging *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and other yeasts and yeast-like organisms. J Clin Microbiol 1999;37:591-595.
 176. CARRILLO-MUÑOZ ALFONSO JAVIER, ABARCA LOURDES Y QUINDÓS GUILLERMO, Métodos colorimétricos para la determinación de la sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos, 50 Forum micológico, Rev. Iberoam. Micol. 2001; 18: 150-155
 177. TO WK, FOTHERGILL AW., RINALDI MG. Comparative evaluation of macrodilution and Alamar colorimetric microdilution broth methods for antifungal susceptibility testing of yeast isolates. J Clin Microbiol 1995; 33: 2660-2664.
 178. ESPINEL-INGROFF A. Clinical utility of *in vitro* antifungal susceptibility testing. Rev Esp Quimioter 2000;13:161-166.
 179. CANTON E, PEMAN J, CARRILLO-MUÑOZ A, et al. Fluconazole susceptibilities of bloodstream *Candida* spp. Isolates as determined by National Committee for Clinical Laboratory Standards Meted M27-A and two other methods. J Clin Microbiol 1999; 37: 2197-2200.
 180. SUGAR AM. Use of amphotericin B with azole antifungal drugs. What are we doing? Antimicrob Agents Chemother 1995;39:1907-1912.
 181. ESPINEL-INGROFF A. *In vitro* antifungal susceptibility methods and clinical applications of antifungal resistance. J Mycol 2000;38:293-304.
 182. ODDS FC. Personal opinion: Can antifungal sensitivity tests predict clinical treatment outcomes? Rev Iberoam Micol 1997;14:83-84.
 183. ODDS FC. Should resistance to azole antifungals *in vitro* be interpreted as predicting clinical non-response? Drug Resistance Updates 1998;1:11-15.
 184. QUINDOS G, SAN MILLAN R, BURGOS A, et al. Evaluación de la sensibilidad a los antifúngicos de aislamientos clínicos de los serotipos A y B de *Candida albicans* mediante el método ATB Fungus. Enf
 185. PFALLER MA, ARIKAN S, LOZANO-CHIU M, et al. Clinical evaluation of the ASTY colorimetric microdilution panel for antifungal susceptibility testing. J Clin Microbiol 1998;36:2609-2612.
-

DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA DEL
ACIDO CARBÁMICO EN *C. albicans* Y *C. neoformans*.

186. DAVEY KG, HOLMES AD, JOHNSON EM, SZEKELY A, WARNOCK DW. Comparative evaluation of Fungitest and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. J Clin Microbiol 1998;36:926-930.
187. WITTHUHN F, TOUBAS D, BEGUTNOT I, et al. Evaluation of the Fungitest kit by using strains from human immunodeficiency virus-infected patients: study of azole drug susceptibility. J Clin Microbiol 1999;37:864-866.
188. NATIONAL COMMITTEE FOR QUALITY ASSURANCE, State of Health Care Quality: 2002 Washington, DC: NCQA, 2003.
189. THE PHARMACEUTICAL RESEARCH AND MANUFACTURERS OF AMERICAN (PHRMA). New medicines in development for infectious diseases. Available at [http:// www. phrma. org](http://www.phrma.org) (document dated September 29, 2000)
190. SWINNE, DANIEL; RAES-WUYTACK, C.; VAN LOOVEREN, K.; & DESMENT P.. Comparative evaluation of Fungitest®, Neo-Sensitabs® and M27T-NCCLS Broth Microdilution Methods For Antifungal Drugs Suceptibility Testing of *Candida* Species and *Cryptococcus Neoformas*, Mycoses 42:231-237. 1999
191. DICCIONARIO TERMINOLÓGICO DE CIENCIAS MÉDICAS. Undécima Edición, Editorial Salvat Editores S.A. de C.V., Barcelona España. 1975
192. DICCIONARIO DE LA LENGUA ESPAÑOLA. 1ª Edición, 31ª Reimpresión, Editorial Larouse S.A. de C.V., México. 1999.
193. DICCIONARIO MOSBY DE MEDICINA, ENFERMERIA Y CIENCIAS DE LA SALUD. 5ª Edición, Editorial Harcourt., Barcelona España. 2000
194. <http://www.aventispharma.com.pe/batrafen.htm>