



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
HOSPITAL GENERAL “DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ  
GARZA”  
CENTRO MÉDICO NACIONAL “LA RAZA”**



**Susceptibilidad del género *Candida* a antifúngicos convencionales,  
utilizados en la unidad médica de alta especialidad hospital general  
“Gaudencio González Garza” del centro médico nacional “La raza”.**

**Presenta:**

**Ada Freheneth Hernández Peñaloza**

**Para obtener el grado académico de especialista en patología clínica**

**Asesor de tesis:**

**Q.F.B. María del Socorro Méndez Tovar**

**UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” CMN La raza**

**México D.F.**

**2012**



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.

**TESIS APROBADA POR:**

---

**DRA. LUZ ARCELIA CAMPOS NAVARRO  
DIRECTORA DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD.  
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD “DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ  
GARZA”**

---

**DRA. MARÍA GUADALUPE CARRILLO MONTES  
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE ESPECIALIZACIÓN EN PATOLOGÍA  
CLÍNICA  
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD “DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ  
GARZA”**

---

**Q.F.B. MARÍA DEL SOCORRO MÉNDEZ TOVAR  
JEFE DE SECCIÓN LABORATORIO CENTRAL  
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD “DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ  
GARZA”.  
ASESOR DE TESIS**

---

**ADA FREHENETH HERNÁNDEZ PEÑALOZA  
RESIDENTE DE TERCER AÑO  
ESPECIALIDAD PATOLOGÍA CLÍNICA  
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD “DR. GAUDENCIO GONZÁLEZ  
GARZA”  
ALUMNO**

## ÍNDICE

TEMA	PÁG.
Hoja de firmas	2
Resumen	5
II. Antecedentes	7
III. Planteamiento del Problema	13
IV. Justificación	14
V. Hipótesis	15
VI. Objetivos	16
6.1 Objetivo general	16
6.2 Objetivos Específicos	16
VII. Material y métodos	17
7.1 Lugar de estudio	17
7.2 Tipo y diseño de estudio	17
7.3 Criterios de selección	17
7.4 Tamaño de la muestra	17
7.5 Variables	17
7.6 Diseño general del estudio	18
7.7 Análisis estadístico	20
7.8 Aspectos éticos	20
7.9 Recursos	20
7.10 Factibilidad	21
VIII. Cronograma de actividades	22

IX.	Resultados	23
X.	Anexos	25
XI.	Discusión	30
XII.	Conclusiones	31
XIII.	Bibliografía	32

## RESUMEN

**Antecedentes.** De acuerdo con estudios realizados con anterioridad existen reportes que el género *Candida* y sus distintas especies son causantes de un gran número de Infecciones Nosocomiales, según lo reportado en el 2010 en la UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” CMN La Raza, así como en distintos países de Sudamérica; se le ha relacionado principalmente con el uso indiscriminado de antibióticos de amplio espectro, esteroides y citotóxicos, así como los trasplantes de órganos sólidos y células progenitoras hematopoyéticas, instalación de catéteres venosos, nutrición parenteral por tiempo prolongado, neoplasias, síndrome de inmunodeficiencia adquirida y diabetes mellitus, entre muchos otros. Considerando dentro de las especies a *C. albicans* como el causante del 40%. Existen más de 150 especies de *Candida*, sin embargo únicamente 17 son patógenas para el hombre, siendo *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. tropicalis* las causantes del 90% de las infecciones y el 10% restante se encuentra representado por especies menos comunes como *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. rugosa*, *C. famata*, *C. inconspicua*, *C. norvegensis*, *C. lipolytica*, *C. zeylanoides*, *C. pelliculosa* y *C. dublinensis*. Se han identificado diversos factores de virulencia como: la capacidad de *Candida* para adaptarse a nuevas situaciones mediante la formación de una bio-película, la producción de enzimas hidrolíticas (proteasas, lipasas y fosforilasas) y adhesinas, el intercambio de genes entre distintas especies y su dimorfismo. En la actualidad existen distintos métodos diagnósticos para evaluar la sensibilidad de colonias aisladas de levaduras a distintos antifúngicos mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), dentro de estas metodologías encontramos el método de microdilución y/o macrodilución para levaduras (M27 – A3) y el método de difusión en disco (M44 - A) propuestas por la *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) como métodos de referencia.

**Objetivos.** Identificar la susceptibilidad a distintos antifúngicos de las cepas aisladas de cultivos de pacientes de los distintos servicios, de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” Centro Médico Nacional La Raza.

**Metodología.** Se analizaron las muestras biológicas que se recibieron en el departamento de Microbiología en el periodo comprendido de marzo a Mayo de 2012, de pacientes de las distintas áreas clínicas del hospital. Se realizó la identificación y determinación de susceptibilidad a antifúngicos a los especímenes que resultaron positivos al crecimiento de levaduras mediante el uso de tarjetas YS y AST YS01 del sistema vitek 2<sup>®</sup>.

**Factibilidad.** Estudio factible ya que dentro de la investigación únicamente se utilizaron materiales normalmente usados en el departamento de Microbiología, sin generar un costo adicional a la Institución. Otorgando un beneficio a los pacientes mediante la ministración de tratamientos específicos a su padecimiento de origen infeccioso

**Resultados.** De 100 muestras estudiadas se encontró que el 10% de estas presentan resistencia a antifúngicos convencionales, siendo su mayoría del servicio de Neumología. Por otro lado se reportó que *Candida albicans* es la especie mas frecuente aislada en el hospital, sin embargo es *C. glabrata* quien muestra mayor resistencia a Fluconazol y Anfotericina B, ya que el 100% (2) de las cepas aisladas mostro sensibilidad intermedia y/o resistente. De acuerdo al tipo de muestra, el 34% se obtuvo de orina, sin embargo el porcentaje mas alto con cepas resistentes se obtuvo de secreción bronquial, con un 27%.

**Conclusiones.** De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo concluimos, que a pesar de que no existe un gran numero de cepas resistentes a antimicóticos convencionales, es importante enfatizar sobre el uso de métodos diagnósticos que nos ayuden a identificar las distintas especies del género *Candida*, así como su susceptibilidad, con el fin de evitar que el porcentaje de cepas resistentes aumente con el tiempo y a su vez esto se convierta en un problema de salud.

**Palabras clave:** *Candida*, Vitek, resistencia, antifúngicos.

## II. ANTECEDENTES

El número de personas con riesgo de desarrollar candidemia, junto con la incidencia global de este tipo de padecimientos se ha incrementado desde la década de los ochenta.

De acuerdo con un estudio realizado en el año 2010 en la UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” CMN La Raza, se encontró que en muestras de sangre, orina, líquido pleural, aspirado bronquial, herida quirúrgica, secreciones y punta de catéter de las distintas áreas clínicas, se reporta una frecuencia de levaduras del Género *Candida* y sus especies: *C. albicans* 53%, *Candida sp* 47%, englobando dentro de este porcentaje a *C.parapsilosis* 11%, *C. famata* 8%, *C. tropicalis* 7% <sup>(1)</sup>.

En la UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza”CMN La Raza, se atiende a población en las diversas especialidades, como: Hematología, Oncología, Nefrología, Neonatología y Unidad de Trasplantes, por lo que los pacientes tienden a permanecer con terapias antimicrobianas de amplio espectro por periodos prolongados y maniobras invasivas lo que los hace susceptibles de adquirir infecciones oportunistas, como las provocadas por *Candida albicans* y las demás especies pertenecientes a este género. Esto ocasiona una alta morbi-mortalidad debido a la ausencia de respuesta ante el uso de antifúngicos azólicos, por lo cual es importante reportar oportunamente la especie de *Candida* y su sensibilidad, ya que se ha documentado resistencia de algunas especies a los azoles, y mayor agresividad. El poder discriminar de una especie de *Candida*



*albicans*, de una *Candida sp*, nos orienta sobre la evolución de la enfermedad y sobre el tratamiento que se debe otorgar de forma oportuna.

En los últimos años se ha observado un gran incremento de enfermedades infecciosas causadas por hongos, principalmente del género *Candida*. Esto, probablemente favorecido por un gran número de factores ligados a procedimientos terapéuticos, como el uso indiscriminado de antibióticos de amplio espectro, esteroides y citotóxicos, así como los trasplantes de órganos sólidos y células progenitoras hematopoyéticas, instalación de catéteres venosos, nutrición parenteral por tiempo prolongado, neoplasias, síndrome de inmunodeficiencia adquirida y diabetes mellitus, entre muchos otros<sup>(2)</sup>.

Actualmente se considera a las enfermedades infecciosas como la cuarta causa de morbilidad y mortalidad, siendo *C. albicans* el causante del 40% de las infecciones nosocomiales en América Latina<sup>(3,4)</sup>.

Existen mas de 150 especies de *Candida*, sin embargo únicamente 17 son patógenas para el hombre, siendo *C. albicans*, *C. parapsilosis* *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. tropicalis* las causantes del 90% de las infecciones y el 10% restante se encuentra representado por especies menos comunes como *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. rugosa*, *C. famata*, *C. inconspicua*, *C. norvegensis*, *C. lipolytica*, *C. zeylanoides*, *C. pelliculosa* y *C. dublinensis*<sup>(5)</sup>.

El género *Candida* representa un grupo de levaduras comensales del hombre, con morfología oval o redonda de 3 a 7µm de diámetro, las cuales se

reproducen por blastoconidios, formando un pseudomicelio y con capacidad de asimilación y fermentación de carbohidratos, normalmente estos hongos forman parte de la flora de piel y mucosas de tracto genitourinario, respiratorio alto y digestivo, sin embargo se pueden considerar como patógenos para el hombre, principalmente cuando éste se encuentra en situaciones que comprometan su estado inmune<sup>(6)</sup>.

Taxonómicamente *Candida* pertenece al reino fungi, dentro del phylum Ascomycota, orden saccharomycetales, familia saccharomycetaceae.

Dentro del género *Candida* la especie más frecuente es *albicans*, la cual representa aproximadamente el 50% de las especies, seguida por *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* en porcentaje de entre 15% y 30%, respectivamente<sup>(7)</sup>.

Las micosis causadas por *Candida* representan hasta un 20% de las infecciones nosocomiales en pacientes de Unidades de Cuidados Intensivos<sup>(8,9)</sup>. Por otro lado éstas se han reportado como las causantes del 26% hasta el 49% de la morbilidad debida a infecciones diseminadas<sup>(10)</sup>. Esto probablemente debido al uso indiscriminado de terapias antifúngicas, lo que ha llevado al incremento de la resistencia de estos microorganismos a ciertos fármacos.

En los últimos años se ha reportado un incremento en la resistencia de este tipo de hongos a antifúngicos convencionales, como los triazoles, esto además de deberse a las características del huésped, es debido a la presencia de factores asociados a estos microorganismos que favorecen la colonización y diseminación dentro del hospedero. Hasta el momento se han identificado diversos factores de

virulencia como: la capacidad de *Candida* para adaptarse a nuevas situaciones mediante la formación de una bio-película, la cual genera un ambiente idóneo para su reproducción, así como la producción de enzimas hidrolíticas (proteasas, lipasas y fosforilasas) y adhesinas, principalmente proteínas Als (agglutinin-like sequence), Hwp1p, Eap1p, Csh1p; el intercambio de genes entre distintas especies y su dimorfismo. Dentro de los mecanismos mejor estudiados se describe la presencia de la enzima aspartil-proteinasa-2, la cual confiere mayor virulencia que las cepas de características macroscópicas comunes, las cuales producen aspartil proteinasa 1 y 3<sup>(11)</sup>.

Según estudios realizados en hospitales de tercer nivel en todo el mundo se ha encontrado una alta resistencia a tratamientos antifúngicos, se cree que existen tres posibles mecanismos: la modificación de la enzima blanco, como es el caso de alguna mutación o disminución en la expresión del gen EGR11 que codifica para la enzima 14  $\alpha$ -demetilasa quien a su vez es la encargada de la síntesis de ergosterol, este mecanismo se ha relacionado al uso prolongado de fluconazol; por otro lado la incapacidad de encontrar concentraciones adecuadas de antimicóticos en el sitio de acción por la presencia de barreras de permeabilidad o sistemas de bombeo activo, se ha relacionado con la presencia de un grupo de genes denominados factores de resistencia múltiple o pleiotrópica a fármacos, dentro de los que destaca el gen MDR1, el cual ha demostrado que la sobreproducción en ratones confiere cierto grado de resistencia al fluconazol; y por último la inactivación del antibiótico por modificación del mismo<sup>(12, 13)</sup>.

De acuerdo con diversos ensayos clínicos realizados a lo largo de los últimos años se ha encontrado que existe cierta relación entre la resistencia a tratamientos antimicóticos y la especie. Además de esto, se ha encontrado que existen ciertos factores asociados a la resistencia a estos medicamentos.

El uso profiláctico o anticipado de antifúngicos como fluconazol se ha considerado como un factor de riesgo importante para el desarrollo de resistencia de este tipo de hongos a otra clase de medicamentos, lo que ha originado variaciones en la etiología y epidemiología de las candidiasis invasoras <sup>(3, 5, 8, 14)</sup>.

En una serie de estudios realizados en el año 2003 por Redding y Cols, se demuestra que la presencia de *C. glabrata* muestra resistencia a fluconazol, tras haber recibido tratamiento previo a base de Anfotericina<sup>(15)</sup>. Por otro lado Chen y Cols. reportan en el 2005 en un análisis multivariado la resistencia a Fluconazol como causa indirecta de muerte en pacientes con choque, trombocitopenia y puntuación APACHE II mayor a 10 puntos <sup>(16)</sup>, sin embargo en estudios multicéntricos realizados en Latinoamérica se reporta que de 5 hospitales de tercer nivel incluidos en el estudio, no se encontró ninguna cepa resistente a triazoles, por lo que se realizaron nuevos análisis para determinar posibles factores de riesgo para la adquisición de resistencias antifúngicas, encontrando en un estudio realizado en Bogotá, Colombia en el año 2009 que los principales factores de riesgo asociados son: enfermedades hematológicas, antecedente del uso de antimicrobianos de amplio espectro, uso de fluconazol 2 semanas previas al diagnóstico de candidiasis sistémica, diabetes mellitus, uso de catéter central, neutropenia y enfermedad renal crónica.

Por lo mencionado anteriormente y de acuerdo con los resultados obtenidos en diversas series se concluye que la resistencia de *Candida* a azoles es heterogénea y que depende de múltiples factores globales, regionales y locales, lo que explica el porqué de la variabilidad epidemiológica en una misma región <sup>(17)</sup>.

En la actualidad existen distintos métodos diagnósticos para evaluar la susceptibilidad de colonias aisladas de levaduras a distintos antifúngicos mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI), dentro de estas metodologías encontramos el método de microdilución y/o macrodilución para levaduras (M27 – A3) y el método de difusión en disco (M44 - A) propuestas por la *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) como métodos de referencia. De acuerdo a los estándares establecidos por la CLSI encontramos que uno de los métodos utilizados con mayor frecuencia para la identificación de la CMI es el de microdilución, empleado en el sistema Vitek 2<sup>®</sup>, mediante el uso de tarjetas AST YS01<sup>®</sup> de sensibilidad para levaduras <sup>(18)</sup>.

Las tarjetas AST YS01<sup>®</sup> de sensibilidad para levaduras están constituidas por 64 micropocillos, de los cuales un pocillo contiene únicamente medio de cultivo y los restantes contienen antifúngicos como: Voriconazol, Anfotericina B, Flucitosina y Fluconazol a diferentes concentraciones más un medio de cultivo microbiológico deshidratado. El principio de este procedimiento se basa en la técnica de la concentración mínima inhibitoria descrita por MacLowry y Marsh en el año de 1968 <sup>(19)</sup>.

### III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” CMN La Raza se atienden pacientes de diversas especialidades, quienes, debido a la etiología de sus padecimientos, el empleo de tratamientos antimicrobianos e inmunosupresores, los largos periodos de estancia hospitalaria y el uso de dispositivos invasivos condiciona la predisposición a la adquisición de infecciones oportunistas causadas por el género *Candida*, lo cual conlleva a la ministración de tratamientos de manera empírica, favoreciendo que estos microorganismos presenten mecanismos de resistencia a antifúngicos provocando una inadecuada respuesta al tratamiento.

Por lo que es factible plantear la siguiente interrogante:

¿Cual es la susceptibilidad a distintos antifúngicos de las cepas del género *Candida* aisladas de cultivos de pacientes de los distintos servicios, de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” Centro Médico Nacional La Raza?

#### IV. JUSTIFICACIÓN

El incremento de las infecciones fúngicas depende de forma importante del estado inmunológico de los pacientes y de la especie involucrada en la enfermedad, por lo cual es necesario conocer el tipo de especie, ya que algunas son intrínsecamente resistentes a los azóles, siendo esta la principal causa de que se presenten cuadros clínicos cada vez con mayores complicaciones, incrementando la morbi-mortalidad en los pacientes. Las infecciones producidas por el género *Candida* en un periodo de neutropenia, pueden evolucionar a un cuadro agudo de candidiasis diseminada, con choque séptico.

En la UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” CMN La Raza se cuenta con una población pediátrica en un 80% en diversas especialidades, en donde se llevan a cabo procedimientos invasivos, así como la ministración de medicamentos intravenosos, dentro de los cuales se utilizan inmunosupresores, quimioterapéuticos y antimicrobianos por periodos prolongados de tiempo, lo cual facilita la aparición de infecciones oportunistas por las distintas especies de *Candida*.

Sin embargo en la UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” CMN La Raza se continúan aplicando tratamientos antifúngicos de manera empírica, lo que se ha asociado a una mayor agresividad de las cepas hacia el paciente, incrementando la incidencia de morbi-mortalidad, por lo que es de suma importancia conocer la sensibilidad de estos microorganismos a los diversos antifúngicos que se encuentran dentro del cuadro básico para el Instituto Mexicano del Seguro Social, lo que favorece el establecer un tratamiento oportuno orientado

a la especie involucrada, disminuyendo los días de tratamiento, la estancia hospitalaria y los costos en la atención médica en general.

El conocer las especies y susceptibilidad del género *Candida* permite otorgar un diagnóstico precoz y establecer un tratamiento oportuno y adecuado evitando la resistencia a los antifúngicos, lo que a su vez disminuye la estancia hospitalaria y el costo de la atención médica.

## **V. HIPÓTESIS**

De acuerdo al tipo de estudio no se requiere el planteamiento de una hipótesis



## VI. OBJETIVOS

### 6.1 Objetivo general

Identificar la susceptibilidad a distintos antifúngicos de las cepas aisladas de cultivos de pacientes de los distintos servicios de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” Centro Médico Nacional La Raza

### 6.2 Objetivos específicos

- ✓ Determinar las distintas especies pertenecientes al género *Candida*, mediante el equipo automatizado Vitek 2<sup>®</sup>
- ✓ Conocer la susceptibilidad de *Candida* y sus especies a los diferentes antifúngicos utilizados en la UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” CMN La Raza.

## VII. MATERIAL Y MÉTODOS

### 7.1 Lugar de estudio

El estudio se llevó a cabo en la UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” CMN La Raza.

### 7.2 Tipo y diseño del estudio

Estudio prospectivo, transversal, descriptivo, observacional

### 7.3 CRITERIOS DE SELECCIÓN

#### 7.3.1 Criterios de inclusión

Todos los cultivos en donde se aísle un único microorganismo identificado como levadura del género *Candida*

#### 7.3.2 Criterios de exclusión

Todas las muestras biológicas tomadas de manera inadecuada

Todos los cultivos en los que no haya presencia de levaduras

#### 7.3.3 Criterios de eliminación

Muestras biológicas que durante el proceso sufran alguna alteración.

### 7.4 TAMAÑO DE MUESTRA

De acuerdo al tipo de estudio no es necesario el cálculo del tamaño de muestra, sin embargo se analizarán las 100 primeras muestras obtenidas de especímenes biológicos que ingresen al servicio, en las que se identifiquen levaduras, procedentes de todas las áreas clínicas de la UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” Centro Médico Nacional La Raza.

### 7.5 VARIABLES

#### 7.5.1 Variable independiente

*Candida*

Definición conceptual. Organismo micológico del género *Candida* en forma de levadura de reproducción asexual, la cual produce una gama de enfermedades, desde enfermedades mucocutáneas leves a formas diseminadas graves con posible participación de cualquier órgano o sistema.

Definición operacional. Especímenes biológicos que se desarrollen en medios de cultivo como CAN 2<sup>®</sup> o Biggy a los cuales se les realice tinción de Gram y se observen levaduras al microscopio.

Indicador. Cualitativa discreta, nominal dicotómica

Escala de medición. Presente

#### 7.5.2 Variable dependiente

Susceptibilidad

Definición conceptual. Es el estado de estar predispuesto a, sensible, o de carecer de la capacidad de resistir algo, como una enfermedad, patógeno o un medicamento.

Definición operacional. Mediante el uso de tarjetas AST YS01<sup>®</sup> del sistema Vitek 2<sup>®</sup>, se analizará la susceptibilidad utilizando la técnica de microdilución, para la determinación de la CMI.

Indicador. Cualitativa, discreta, nominal

Escala de medición. Sensible, intermedio, resistente

#### 7.6 DISEÑO GENERAL DEL ESTUDIO

Se analizaron todas las muestras biológicas procedentes de las áreas clínicas de la UMAE Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” CMN La Raza que se enviaron al laboratorio central departamento de microbiología, en búsqueda de Hongos en el periodo comprendido entre Marzo y Mayo de 2012. Éstas se

sembraron en medios de Agar sangre, agar chocolate, y Mackonkey, con técnica de asepsia, utilizando guantes y mechero de Bunsen a 30 cm para realizar un estriado continuo del espécimen, rotando el medio de cultivo, en cada inoculación se realizó la quema del asa microbiológica, posteriormente se incubó por un periodo de 24 a 48hs en la incubadora de la marca CII a 37° C, una vez que el microorganismo se desarrolló se observó la morfología y crecimiento de éstas en los diferentes medios de cultivo, posteriormente se realizó tinción de gram. Previa limpieza y realización de la iluminación de Köeller, se colocó el portaobjetos sobre la platina del microscopio, enfocándola con el objetivo de 10x y posteriormente se aplicó aceite mineral para observar la muestra con el objetivo de 100x.

Una vez que se identificó que el espécimen microbiológico presentaba crecimiento de levaduras, se llevó a cabo el aislamiento en los medio de cultivo CAN 2<sup>®</sup> y Biggy, por último se realizó asépticamente la colocación de 3.0 mL de solución salina estéril (NaCl acuoso al 0.45, -0.5 % y un pH de 4.5 a 7.0) en un tubo de ensaye de plástico transparente de poliestireno de 12 a 75 mm. Utilizando un bastoncillo estéril para transferir un número suficiente de colonias morfológicamente similares al tubo de solución salina, se preparó la suspensión a un patrón Mac Farland de 1,80 a 2,20 utilizando el Vitek densicheck calibrado. El tiempo de suspensión no debe superar los 30 minutos antes de inocular la tarjeta. Se colocó el tubo con la suspensión y la tarjeta de identificación de levaduras YST<sup>®</sup> del cassette y otro tubo limpio de las mismas características junto con la tarjeta de sensibilidad para levaduras AST YS01<sup>®</sup>. Posteriormente se introdujo el cassette con las tarjetas antes mencionadas, para iniciar la lectura de cada una mediante un código de barras. Dentro del equipo Vitek 2<sup>®</sup> se llevó a cabo la

incubación de las muestras inoculadas a 35° C por 24 a 36 horas, en donde mediante la técnica de microdilución se determinó la concentración mínima inhibitoria para cada antifúngico contenido en la tarjeta de acuerdo al patrón de crecimiento registrado en el pocillo control, reportando el resultado de acuerdo a lo establecido por la CLSI como resistente, intermedio y susceptible.

## 7.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A través de la estadística descriptiva los resultados obtenidos se representarán mediante gráficos, así como medidas numéricas de resumen como frecuencias y porcentajes.

## 7.8 ASPECTOS ÉTICOS

El presente estudio tiene por objeto aportar conocimientos sobre la susceptibilidad a antifúngicos convencionales utilizados dentro del hospital, con el fin de mejorar los tratamientos ministrados a los pacientes en este tipo de infecciones, por lo que no se puso en riesgo la vida del paciente y no se modificó la historia natural de la enfermedad. Por otro lado, la participación aseguró la confidencialidad de la persona, además de que los procedimientos están de acuerdo con las normas éticas, el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud y con la declaración de Helsinki ya que se trata de especímenes biológicos.

## 7.9 RECURSOS

7.9.1 Humanos: un residente (alumno). Químico (investigador responsable), auxiliar de laboratorio y técnico laboratorista.

7.9.2 Materiales: muestras microbiológicas de pacientes, medios de cultivo agar sangre, agar chocolate, MacKonkey, biggy y CAN2®; mechero de Bunsen,

asa bacteriológica, tubos de ensayo, incubadora cll. Tarjetas AST YS01<sup>®</sup> para Vitek 2<sup>®</sup>, Sistema Vitek 2<sup>®</sup>, marcador de aceite, lápiz, libreta de registro, hojas de papel.

#### 7.10 FACTIBILIDAD

Estudio factible ya que dentro de la investigación únicamente se utilizaron materiales normalmente usados en el servicio, sin generar un costo adicional a la Institución. Otorgando un beneficio a los pacientes mediante la ministración de tratamientos específicos a su padecimiento de origen infeccioso.

## VIII. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Año 2011- 2012

ACTIVIDADES	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abril	May	Jun	Jul
Elaboración del Protocolo									
Revisión y Autorización por el Comité Local y Comités Externos									
Captación y Procesamiento de Muestras									
Revisión resultados Análisis Estadístico Reporte final									

## IX. RESULTADOS

Se estudiaron 100 muestras de pacientes ambulatorios y hospitalizados de la Unidad Médica de Alta Especialidad Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” Centro Médico Nacional La Raza, obtenidas durante los meses de marzo, abril y mayo del 2012, las cuales corresponden a muestras de sangre, orina, expectoración, secreción y lavados bronquiales, heridas quirúrgicas, punta de catéter, líquido pleural y exudados faríngeos y vaginales (Figura 1) de los diferentes servicios de hospital (Figura 2).

La frecuencia de levaduras del género *Candida* y sus especies es: *C. albicans* 58%, *Candida sp.* 42% (Fig.3), encontrando dentro de este grupo *C. parapsilosis* 13%, *C. Tropicalis* 9%, *C. famata* 9%, *C. lusitaniae* 3%, *C. dubliniensis* 3%, *C. glabrata* 2%, *C. kefyr*, *C. lipolytica* y *C. novergensis* con el 1% (Fig.4). A su vez, del total de cepas aisladas se encontró que la especie con mayor índice de resistencia a antifúngicos convencionales es *C. albicans*, con el 50% de casos, seguida de *C. glabrata* con 20%, *C. tropicalis* con 20% y *C. kefyr* con 10% (Tabla 1).

Mediante el sistema Vitek 2<sup>®</sup>, se llevó a cabo la determinación de susceptibilidad de estas cepas a Flucitosina, Fluconazol, Anfotericina B y Voriconazol a distintas concentraciones, encontrando que el 90% de las cepas son sensibles a estos medicamentos y el 10% restante mostro resultados intermedios o resistentes a los antifúngicos, siendo fluconazol el azólico con mayor índice de resistencia (Fig.5). Por otro lado se reportó una sensibilidad intermedia con concentraciones mínimas inhibitorias de hasta 32 en distintos antifúngicos, así

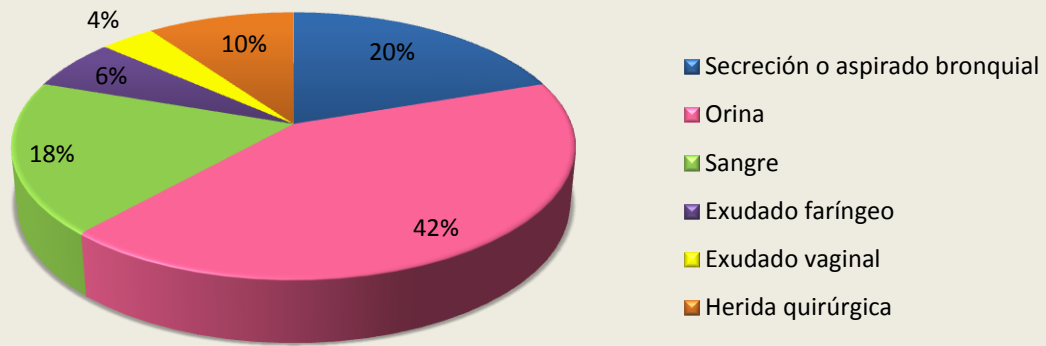


como CMI de más de 128, resultando cepas resistentes principalmente a Voriconazol (Tabla 2).

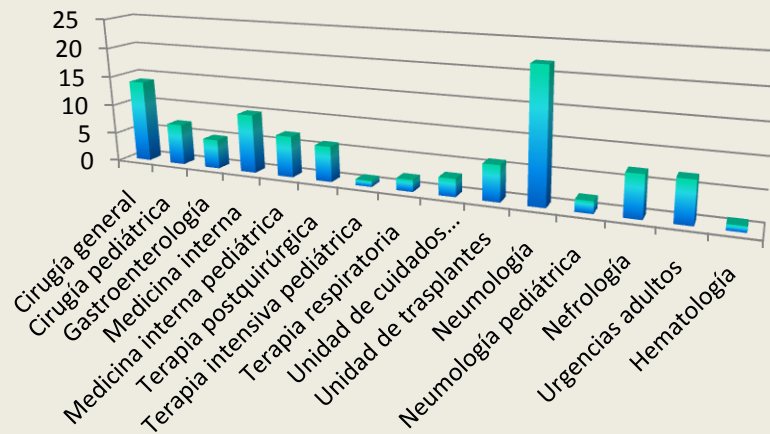
Dentro del análisis de resultados también se encontró que el servicio del hospital con mayor número de cepas resistentes fue Neumología con un 30%, seguido de neumología pediátrica con 20%, Unidad de trasplantes con 20% y urgencias adultos, cirugía pediátrica y gastroenterología pediátrica con el 10% respectivamente (Fig. 6). De acuerdo al tipo de muestras analizadas el 40% que mostró algún tipo de resistencia provenía de secreción bronquial y el 60% restante de orina, exudado faríngeo y vaginal (Fig. 7)

## X. ANEXOS

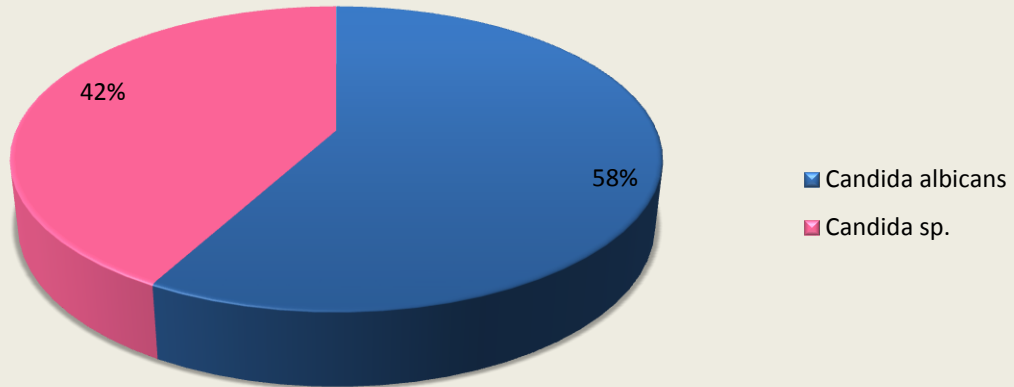
**Figura 1.**  
**Porcentaje por tipo de muestras**



**Figura 2.**  
**Muestras recabadas por servicio**



**Figura 3.**  
**Frecuencia de *Candida albicans* y *Candida* sp.**



**Figura 4.**  
**Frecuencia de especies de *Candida***

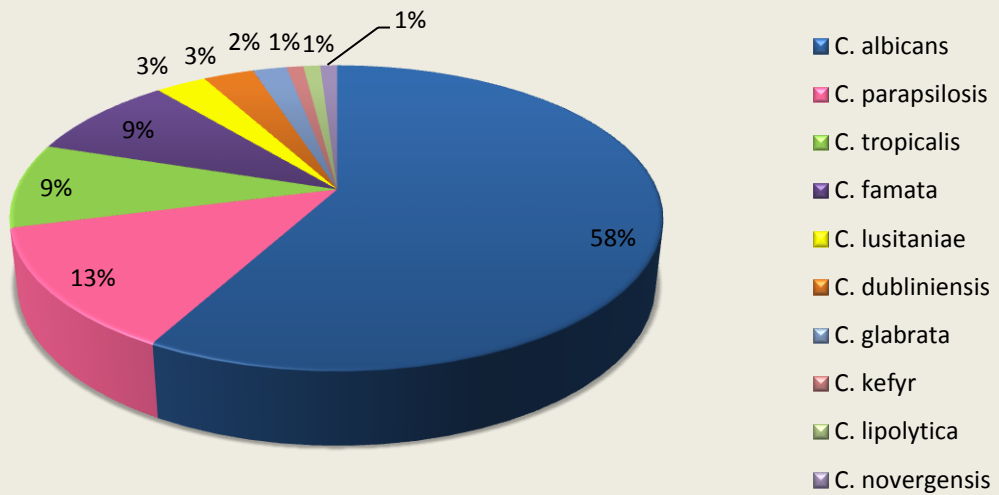
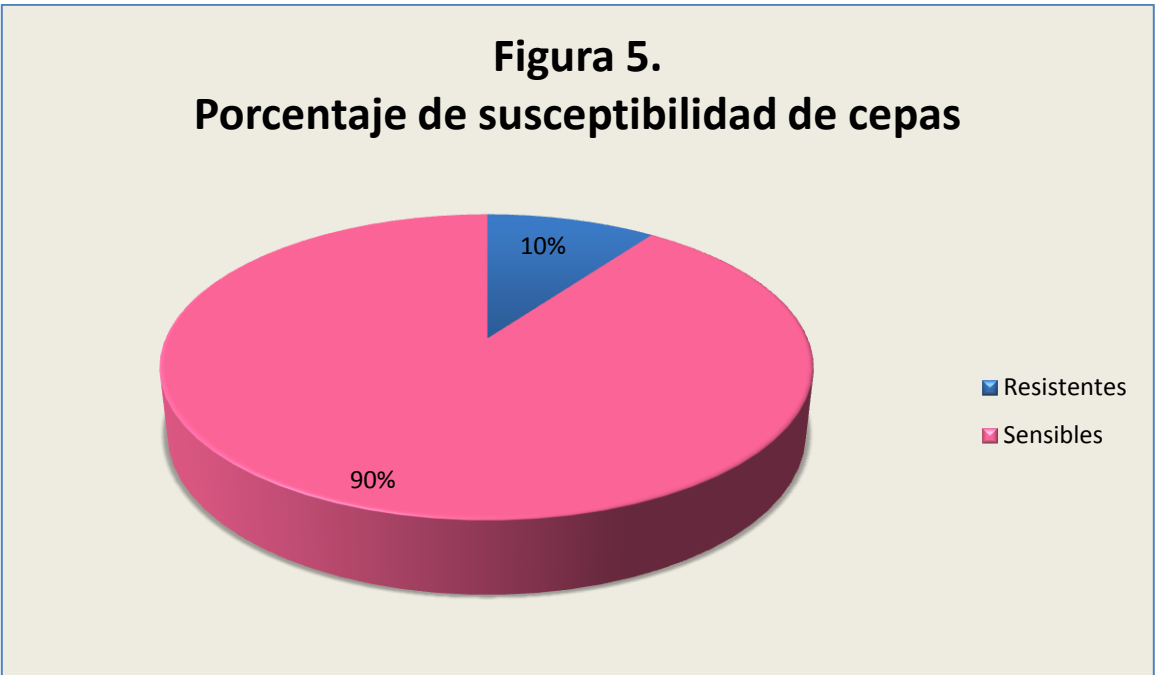


Tabla 1. Especies de Candida con resistencia a antifúngicos		
Candida	No. De cepas	Porcentaje
<i>C. albicans</i>	5	50
<i>C. tropicalis</i>	2	20
<i>C. glabrata</i>	2	20
<i>C. kefyr</i>	1	10
<b>Total</b>	10	100



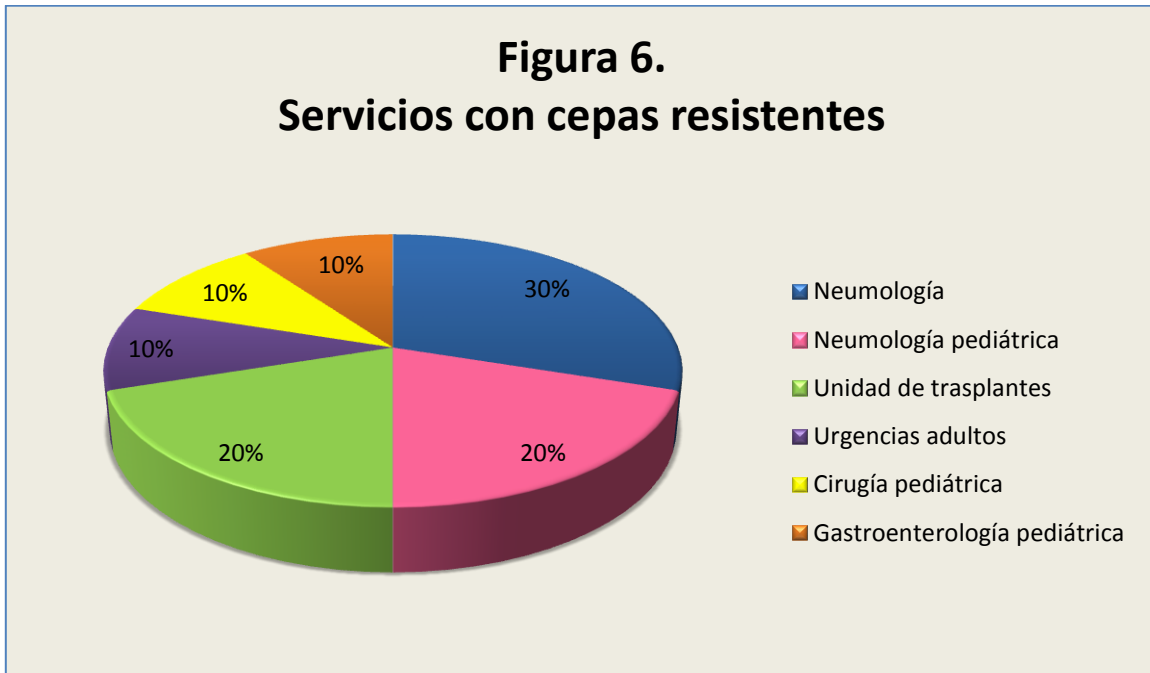
**Tabla 2.**  
**Cepas resistentes a antifúngicos según CMI\***

No. de cultivo	Microrganismo	Flucitosina	Fluconazol	Voriconazol	Anfotericina B
91411	<i>C. albicans</i>	S	I(32)	S	I(2)
92437	<i>C. albicans</i>	S	I(32)	S	S
92438	<i>C. albicans</i>	I(8)	S	S	S
100394	<i>C. albicans</i>	S	I(32)	R(16)	S
100266	<i>C. albicans</i>	S	I(32)	S	S
93276	<i>C. tropicalis</i>	S	I(16)	S	S
91883	<i>C. tropicalis</i>	S	S	R(16)	S
99127	<i>C. glabrata</i>	S	I (32)	S	S
101061	<i>C. glabrata</i>	S	I(2)	S	I
93820	<i>C. kefyr</i>	I(16)	R(32)	S	S

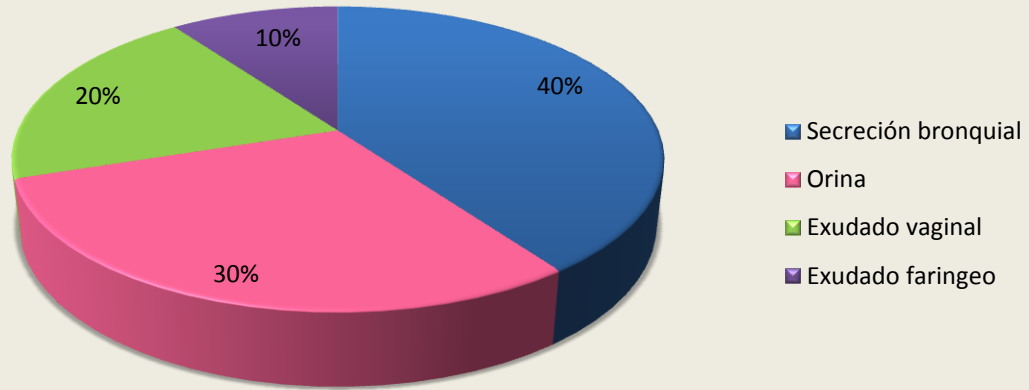
I: intermedia, S: sensible, R: resistente

\*CMI: Concentración mínima inhibitoria, valores de acuerdo a Reference Method for broth dilution Antifungal susceptibility testing of yeast; Approved standard - third edition of CLSI, 2010.

**Figura 6.**  
**Servicios con cepas resistentes**



**Figura 7.**  
**Muestras con cepas resistentes**



## XI. DISCUSIÓN

Las especies del género *Candida* actualmente representan uno de los agentes etiológicos más frecuentes de infecciones nosocomiales, estando asociadas a una alta morbi – mortalidad, en especial en unidades de cuidados intensivos.

De acuerdo a los resultados obtenidos en este estudio, se encontró correlación con investigaciones llevadas a cabo en otros centros hospitalarios, en donde se reporta que las causas que originan con mayor frecuencia este tipo de infecciones son, el uso de antimicrobianos de amplio espectro, esteroides y medicamentos citotóxicos, catéteres centrales, apoyo mecánico ventilatorio y pacientes sometidos a trasplante, entre otros <sup>(2)</sup>.

Con el advenimiento de mejores tratamientos y una mayor supervivencia en los pacientes críticamente enfermos, las infecciones por gérmenes oportunistas son cada vez más frecuentes, como se demuestra en estudios realizados por diversos autores, como Roilides y Col. y Shetty, quienes reportan una frecuencia de 51% y 65.5% de casos por *C. albicans*<sup>(20)</sup>. Sin embargo, en la actualidad en hospitales de Latinoamérica, Estados Unidos, Canadá y Europa se ha encontrado un incremento en el número de cepas pertenecientes a especies no *albicans*, siendo *C. parapsilosis* la más frecuente después de *C. albicans*, seguida por *C. tropicalis* y *C. guilliermondi* como lo reportado en el Hospital General “Dr. Gaudencio González Garza” <sup>(14,17)</sup>.

Debido a que el género *Candida* representa cerca del 80% de infecciones fúngicas nosocomiales, la identificación de la especie implicada en la etiología de la candidiasis constituye la base de la epidemiología de estas infecciones, y el conocimiento de la sensibilidad a los antifúngicos permite establecer estrategias

terapéuticas empíricas y profilácticas adecuadas. Aunque los resultados de resistencia/sensibilidad in vitro no correlacionan totalmente con las observaciones clínicas, los datos obtenidos en este trabajo muestran la relevancia actual de este fenómeno en pacientes mexicanos, ya que se observó resistencia en 10% de las muestras estudiadas, similar a lo reportado en un estudio de Manzano Gayosso y Col. en el Hospital de especialidades del CMN Siglo XXI en el 2007, en donde reportan resistencia en casi 20% de pacientes estudiados <sup>(21)</sup>. Así como en otro llevado a cabo en Argentina en el 2011, en donde reportan una resistencia de *C. glabrata* a fluconazol del 20% <sup>(22)</sup>. Por lo tanto cabe mencionar que *C. glabrata* ocupa el tercer lugar de frecuencia en aislamientos en diversas series realizadas, lo que probablemente está favorecido por el uso de fluconazol como terapia profiláctica, coincidiendo con lo descrito por Trick y Col. y García Ruíz quien a su vez menciona que *C. krusei* y *C. glabrata* son especies escasamente sensibles a fluconazol, posiblemente seleccionadas por la utilización de este antifúngico en regímenes profilácticos <sup>(14)</sup>.



## XII. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos en el presente trabajo concluimos, que el porcentaje de cepas susceptibles a antimicóticos convencionales utilizados en la UMAE “Dr. Gaudencio González Garza” CMN La Raza, es del 90%, sin embargo, es importante enfatizar sobre el uso de métodos diagnósticos que nos ayuden a identificar las distintas especies del género *Candida*, así como su susceptibilidad, con el fin de evitar que el porcentaje de cepas resistentes aumente con el tiempo y a su vez esto se convierta en un problema de suma importancia, al no tener opciones terapéuticas adecuadas para este tipo de infecciones.

Por otro lado es importante mencionar que el uso profiláctico de azoles incrementa la posibilidad de que algunas especies se vuelvan resistentes, tal es el caso de las cepas de *C. glabrata* aisladas en este estudio, las cuales están relacionadas al uso previo de fluconazol y a condiciones de inmunosupresión para los pacientes.

### XIII. BIBLIOGRAFÍA

1. Hernández C, Méndez S. Sensibilidad y especificidad del medio chromagar CAN 2, para la identificación de especies del género *Candida*. México. Universidad Nacional Autónoma de México; 2011.
2. Hernández F, Córdova E, Manzano P, López R, Bazán E, López R. Frecuencia de micosis en pacientes inmunosuprimidos de un hospital regional de la Ciudad de México. *Salud Pública Mex* 2003; 45: 455-460.
3. Lee I, Fishman N, Zaoutis T, Morales K, Weiner M, Synnestvedt M, et al. Risk Factors for Fluconazole-Resistant *Candida glabrata* Bloodstream Infections. *Arch Intern Med*. 2009;169(4):379-383
4. Demesa R, Valdes A, Garcia J. Frecuencia y curso clínico de candidiasis neonatal. *Arch Inv Mat Inf* 2011;III(3):121-127
5. Gómez J, García-Vázquez E, Hernández A, Espinosa C. Candidemias nosocomiales: un problema emergente. *Rev Esp Quimioter* 2010;23(4):158-168
6. López R, Méndez L, Hernández F, Castañón R. *Micología médica*; 2ª ed; Editorial trillas, México; 2004:99-111
7. Castañón L. *Candidiasis o candidosis*. [facmed.unam.mx](http://facmed.unam.mx). 2011
8. Morace G, Borghi E. Fungal infections in UCI patients: epidemiology and the role of diagnostics. *Minerva Anesthesiol* 2010;76:950-6
9. Hernández B, Prieto M, Muñoz J, Curiel E, Mora J, Arias L. Características clínico-epidemiológicas y taxonómicas de las candidiasis sistémicas en una unidad de cuidados intensivos. *Medicrit* 2008; 5(1):1-12

10. Vargas J, Martínez J, Sotelo M, Muciño E, Mould J. Coste-efectividad del uso secuencial de anidulafungina y voriconazol oral en el tratamiento de candidiasis invasiva en pacientes no neutropénicos en México. *Rev Esp Econ Salud* 2010;9(2): 70-80
11. Karkowska-Kuleta J, Rapala-Kozik M, Kozik A. Fungi pathogenic to humans: molecular basis of virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* y *Aspergillus fumigatus*. *Acta biochimica polonica* 2009;56(2): 211-224
12. Gómez C. Resistencia de levaduras del género *Candida* al fluconazol. *Infectio* 2010: 14(2): 172-180
13. Espinel-Ingroff A. Mechanisms of resistance to antifungal agents: yeast and filamentous fungi. *Rev iberoamerican Micol* 2008; 25: 101-106
14. Dolande M, Vera R, Panizo M, Macero C, Moreno X, Calvo A, Selgrad S, et al. Distribución y sensibilidad a los antifúngicos de aislamientos clínicos de *Candida* en seis centros de salud del área metropolitana de Caracas, Venezuela (años 2003-2005). *Rev Iberoam Micol* 2008; 25: 17-21
15. Redding S, Kirkpatrick W, Saville S, Coco B, White W, Fothergill A, et al. Multiple patterns of resistance of fluconazole in *Candida glabrata* isolates from a patient with oropharyngeal candidiasis receiving head and neck radiation. *J clin microbial* 2003;41(2):619-622
16. Chen T, Chen Y, Tsai J, Penq C, Lu P, Chang K, et al. Epidemiological analysis and antifungal susceptibility of *Candida* blood isolates in Southern Taiwan. *J microbial immunol infect* 2005; 38(3): 200-10

17. Torres N, Álvarez C, Rondón M. Evaluación mediante tres técnicas de susceptibilidad a fluconazol en especies de *Candida* aisladas en pacientes con infecciones invasoras. Bogotá-Colombia. Rev Chil infect 2009; 26(2): 135-143
18. Cantón E, Martín E, Espinel A. Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (Documentos M27-A3, M38-A M44-A). España. Revista Iberoamericana de micología 2007; 15(1): A1-B6
19. MacLowry, JD, and HH Marsh. 1968. Semi-automatic microtechnique for serial dilution antibiotic sensitivity testing in the clinical laboratory. J. Lab.Clin. Med. 1968; 72: 685-687.
20. Reséndiz J, Morales J, Factores asociados a mortalidad por fungemias causadas por *Candida sp.* en niños. Bol Med Hosp Infant Mex. 2007; 64: 91-98.
21. Manzano P, Méndez L, Hernández F, López R. La resistencia a los antifúngicos: un problema emergente en México. Gac Méd Méx. 2008; 144 (1): 23-26.
22. Córdoba S, Vivot W, Bosco M, Taverna C, Szusz W, Murisengo O, et al. Species distribution and susceptibility profile of yeasts isolated from blood cultures: results of a multicenter active laboratory-based surveillance study in Argentina. Revista Argentina de Microbiología. 2011; 43: 176-185