



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

**TIPIFICACIÓN Y SENSIBILIDAD A ANTIMICÓTICOS DE ESPECIES DE
CANDIDA AISLADAS DE PACIENTES PEDIÁTRICOS, ESTUDIO
RETROSPECTIVO EN UN HOSPITAL DE TERCER NIVEL DE LA
CIUDAD DE MÉXICO.**

TESINA

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

P R E S E N T A

ALEJANDRA TREJO RODRÍGUEZ

DIRECTOR DE TESINA

M. A. GERARDO GARCÍA CAMACHO



Ciudad Universitaria, Cd. Mx., 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: Abel Gutiérrez Ramos**
VOCAL: **Profesor: Misael González Ibarra**
SECRETARIO: **Profesor: Gerardo García Camacho**
1er. SUPLENTE: **Profesor: Beatriz Ruíz Villafan**
2° SUPLENTE: **Profesor: Genaro Jiménez Reyes**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

**INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA, LABORATORIO DE PARASITOLOGÍA Y
MICOLOGÍA.**

ASESOR DEL TEMA:

M en A. Gerardo García Camacho

SUSTENTANTE:

Alejandra Trejo Rodríguez

ÍNDICE

	PÁGINAS
INTRODUCCIÓN	5
1. MARCO CONTEXTUAL	
1.1. CARACTERÍSTICAS DEL HOSPITAL	7
1.2. INFRAESTRUCTURA	7
1.3. UBICACIÓN GEOGRÁFICA	8
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	9
3. MARCO TEÓRICO	
3.1. CANDIDOSIS	10
3.2. EPIDEMIOLOGÍA	10
3.3. AGENTE ETIOLÓGICO	11
3.4. PATOGENIA	14
3.5. DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES	16
3.6. DIAGNÓSTICO	19
3.6.1. EXAMEN DIRECTO	22
3.6.2. CULTIVOS	23
3.7. TIPIFICACIÓN	25
3.7.1. FILAMENTACIÓN EN SUERO	26
3.7.2. PRODUCCIÓN DE CLAMIDOCONIDIOS	26
3.7.3. PRUEBAS BIOQUÍMICAS	27
3.8. TRATAMIENTO	29
3.9. SENSIBILIDAD A ANTIMICÓTICOS	32
3.9.1. MECANISMOS DE RESISTENCIA.....	34

4. JUSTIFICACIÓN	38
5. OBJETIVOS	
5.1. OBJETIVO GENERAL	39
5.2. OBJETIVOS PARTICULARES	39
6. HIPÓTESIS	40
7. MATERIAL Y MÉTODOS	41
7.1. UNIVERSO DE TRABAJO	41
7.2. CRITERIOS DE SELECCIÓN	41
7.3. PROCEDIMIENTOS	42
8. RESULTADOS	45
9. DISCUSIÓN	51
10. CONCLUSIONES	56
11. REFERENCIAS	57
12. ANEXOS	63

INTRODUCCIÓN.

Actualmente, las infecciones ocasionadas por las especies del género *Candida* tienen un impacto importante a nivel mundial y nacional en la morbilidad y mortalidad que oscila entre el 15 y 35 % en adultos y entre el 10 y 15 % en neonatos y niños ⁽³⁾, sumado al incremento en la frecuencia y cambios en la distribución de especies que se ha venido observando en la última década ⁽²⁾. En el caso de México los estudios clínico-epidemiológicos encaminados a determinar la incidencia de las infecciones ocasionadas por *Candida* y su susceptibilidad a antifúngicos son pocos y, aún más, reducidos los enfocados a la población pediátrica.

De lo anterior, la importancia de llevar a cabo estudios epidemiológicos, y darlos a conocer, es el caso del presente documento que rescata la necesidad de diagnosticar, tipificar, realizar pruebas de sensibilidad con diversos antimicóticos que permitan precisar el tratamiento adecuado y con ello disminuir los fracasos terapéuticos.

Así entonces, se desglosa el trabajo realizado en el Instituto Nacional de Pediatría coordinado por la Secretaría de Salud de nuestro país, que abarca desde la elaboración de un marco contextual que ubica de manera precisa el lugar, las características del hospital y la población que se atiende. De igual forma se describe la problemática que mueve a la realización de este documento.

Asimismo, se llevó a cabo una investigación teórica que contempla qué es la candidosis, sus agentes etiológicos, la distribución de especies, métodos empleados para el diagnóstico, tipificación, sensibilidad a antimicóticos y el tratamiento empleado para esta afección.

De la misma forma, se encontrará en este escrito el planteamiento de la hipótesis que da paso a la generación de los diversos objetivos que se requieren para la

estructuración de la investigación. Además, se describe la metodología utilizada para recabar los datos, la concreción de los resultados obtenidos y su discusión.

Finalmente, se incluyen las conclusiones, bibliografía consultada y los anexos que se consideraron relevantes.

1. MARCO CONTEXTUAL.

1.1. Características del Hospital.

El Instituto Nacional de Pediatría (INP) es un Organismo Público Descentralizado bajo la coordinación de la Secretaría de Salud.

Es un hospital de tercer nivel que ofrece atención médica especializada a la población infantil, para ello dispone de los servicios de Cardiología, Cirugía Cardiovascular, Cirugía General, Cirugía Oncológica, Cirugía Plástica y Reconstructiva, Cirugía de Tórax y Neumología, Alergología, Dermatología, Endocrinología, Estomatología, Gastro-Nutrición, Urología, Genética, Hematología, Infectología, Inmunología, Medicina Interna, Medicina Física y Rehabilitación, Nefrología, Neonatología, Neurología, Neurocirugía, Oftalmología, Oncología, Ortopedia, Otorrinolaringología, Parasitología, Micología, Radioterapia, Salud Mental, Comunicación Humana, Salud Reproductiva y Urgencias ⁽¹⁾.

1.2. Infraestructura.

Actualmente el Instituto Nacional de Pediatría está conformado por un Edificio de Hospitalización y Laboratorios Clínicos y Especializados, Edificio de consulta externa y toma de muestras, Edificio de planeación, Área de Rehabilitación, Área de Neurodesarrollo, Banco de sangre, Residencia médica, Torre de Investigación, Edificio administrativo, Centro de información y documentación además del Centro rural de Tlaltizapán y la Unidad de Investigación en Huatecalco, en el Estado de Morelos ⁽¹⁾.

El espacio donde se orienta este proyecto, es el Laboratorio de Parasitología y Micología del Departamento de Análisis Clínicos y Estudios Especiales del INP. El

citado laboratorio dispone de tres áreas: micología, parasitología e inmunoparasitología-micología.

1.3. Ubicación geográfica.

El Instituto Nacional de Pediatría se ubica en Insurgentes Sur 3700, Letra C, Col. Insurgentes Cuicuilco, Delegación Coyoacán, C.P 04530, en la Ciudad de México D.F.⁽¹⁾

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Las infecciones provocadas por hongos levaduriformes del género *Candida* son causa de morbilidad y mortalidad en hospitales de tercer nivel de nuestro país, observando un incremento en la frecuencia y cambios en la distribución de especies ⁽²⁾, fundamentalmente las infecciones por *Candida spp.*, han emergido como una causa importante de infecciones en los pacientes que ingresan al Instituto Nacional de Pediatría.

Es importante hacer estudios epidemiológicos debido a varias razones:

a) los grupos de riesgo son distintos; b) actualmente se dispone de más fármacos antifúngicos; c) las guías terapéuticas evolucionan y cambian las indicaciones; d) la frecuencia de las especies infectantes de *Candida* varían en el tiempo, y e) la incidencia y distribución de las especies es distinta en los diferentes países, e incluso localmente pueden aparecer brotes nosocomiales hospitalarios por transmisión horizontal (debidos a distintas especies y/o factores) ^(3,7).

Debido a esto es necesario tener en revisión constante la incidencia de especies de *Candida* así como su susceptibilidad a antimicóticos, que se presentan en los pacientes; además, es preciso indicar que los datos obtenidos para la mayoría de los estudios epidemiológicos son proporcionados por la población adulta, por lo que los datos obtenidos para la población pediátrica resultan escasos en comparación con los conseguidos en la población adulta.

3. MARCO TEÓRICO.

3.1. Candidosis.

Es una micosis causada por diversas especies de hongos levaduriformes oportunistas del género *Candida*, en especial *C. albicans*, en ésta se presenta una variedad de cuadros clínicos afectando principalmente las mucosas (oral y genital), piel, uñas y de manera excepcional otros órganos como pulmones, intestinos, corazón y sistema nervioso central. La candidosis de mucosas y de piel son las más frecuentes, mientras que las sistémicas son de evolución aguda o crónica y generalmente severas^(4,5).

3.2. Epidemiología.

La candidosis es un padecimiento cosmopolita y muchas de las especies del género *Candida* forman parte de la biota normal de las mucosas, piel, del tracto gastrointestinal, tracto respiratorio alto, tracto genitourinario del humano y de algunos animales homeotérmicos; otras se han llegado a aislar del suelo y alimentos, sin embargo estos aislamientos se consideran por contaminación fecal^(2,3,4,5,6).

En general, la candidosis afecta a todos los grupos de edad y sexo, sin embargo, es común en lactantes, debido a la infección de las mucosas al entrar en contacto en el canal de parto, sobre todo cuando la madre cursó con candidosis en el último trimestre del embarazo; en adultos se presenta entre la tercera y cuarta década de la vida, aunque en ancianos también es frecuente, más bien se asocia con procesos concomitantes. La enfermedad afecta a los dos sexos por igual, sólo los casos genitales son más frecuentes en la mujer por la condición anatómica de la

vagina y diversos factores como: el embarazo, cambios de pH o una baja de la respuesta inmune ⁽⁴⁾.

La mayoría de las veces la infección por *Candida spp*, es de origen endógeno, en el que las especies de *Candida* que constituyen la microbiota comensal de diversos sitios anatómicos en condiciones de debilidad del paciente se comportan como patógenos oportunistas ^(4,7,8,9).

En otras ocasiones el origen de la infección se adquiere de forma exógena, y esto se da principalmente a través de las manos de los profesionales de la salud que atienden a los pacientes o con materiales contaminados como catéteres, jeringas no estériles, válvulas cardiacas, respiradores y soluciones intravenosas, así como por relaciones sexuales ^(2,4,7,8,9).

3.3. Agente etiológico.

El género *Candida* está integrado por un grupo heterogéneo de hongos levaduriformes, las cuales tienen las siguientes características: blastoconidios unicelulares; tamaño aproximado de 3-7 μm de diámetro; ausencia de pigmentos carotenoides o melánicos; forma celular variable (globosa, elíptica, cilíndrica o triangular); pared celular con dos capas; forman pseudohifas o hifas verdaderas (con excepción de *C. glabrata*); se reproducen por gemación holoblástica o blastoconidios y tienen capacidades de asimilación y fermentación de carbohidratos ^(4,6,10).

El género *Candida* contiene aproximadamente 200 especies, clasificadas taxonómicamente dentro de la familia *Saccharomycetes*, (Tabla 1). No obstante, menos de 10 especies (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. famata*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. lusitaniae* y *C. dubliniensis*) son las que se relacionan con mayor frecuencia con las diversas formas clínicas de

candidosis ^(4,5,13), las cuales se mencionan brevemente en la tabla 2.

Tabla 1. Taxonomía del género *Candida* ^(4,11)

Dominio:	<i>Eukarya</i>
Reino:	<i>Fungi</i>
Phylum:	<i>Ascomycota</i>
Subphylum:	<i>Ascomycotina</i>
Clase:	<i>Ascomycetes</i>
Orden:	<i>Saccharomycetales</i>
Familia:	<i>Saccharomycetes</i>
Género:	<i>Pichia, Hansenula, Arxiozyma (estados teleomórficos)</i> <i>Candida (estados anamórficos)</i>
Especies:	<i>C. albicans, C. glabrata, C. parapsilosis, C. tropicalis, C. guilliermondii, C. kefyr, C. krusei, C. lusitaniae, C. dubliniensis, C. famata</i>

Tabla 2. Variedades clínicas de candidosis ^(4,12).

	Tipo Clínico	Signos y síntomas
Mucocutánea	Oral	Placas blanquecinas, pseudomembranosas, cremosas, con base eritematosa. Dolor y ardor.
	Genital	Eritema, leucorrea, leucoplasmas, pústulas pequeñas. Irritación, prurito y ardor.
	Mucocutánea crónica	Lesiones granulomatosas, eritemato-escamosas y desfigurantes.
	Gastrointestinal	Placas blanco-amarillentas con fondo eritematoso, en ocasiones se presentan úlceras. Dolor, náusea, vómito y disfagia.
	Bronquial/pulmonar	Tos productiva, engrosamiento peribronquial, disnea, dolor torácico, fiebre.
Cutánea	Intertrigos	Placas eritemato-escamosas, vesiculopustulares, se presentan placas satélites. Prurito y ardor.
	Onicomycosis (perionixis, onicólisis, onixis)	Uñas opacas, engrosadas, cambia de color amarillo hasta verde y algunas veces se torna negra, estrías transversales. Dolor, inflamación y eritema
	Del área del pañal	Placas eritemato-escamosas, vesiculo-

		pustulares y costras . Ardor y prurito.
	Pustulosis	Lesiones pustulares y/o micronodulares. Fiebre.
	Granulomatosa	Nodulaciones reseca de color amarillento, deformantes de las zonas que afectan.
Sistémica	Tracto urinario	Placas perladas. Puede ocasionar pielonefritis.
	Meningitis	Dolor de cabeza, rigidez de la nuca, fiebre intermitente, hemiparesia, vértigo y estupor que puede llegar a coma.
	Endocarditis	Fiebre, soplos, esplenomegalia y tendencia a que se desprendan los émbolos.
	Candidemia (fungemia)	Se afecta el estado general del paciente, fiebre y escalofríos.

3.4. Patogenia.

El término candidosis comprende un espectro clínico extremadamente variado que puede ir desde una infección superficial hasta una diseminada, y puede afectar cualquier órgano o sistema ⁽¹³⁾. El papel patogénico del hongo en el ser humano es muy complejo, depende de la pérdida del equilibrio entre el hospedero, el hongo levaduriforme y el microambiente, por lo tanto es preciso considerar diversos factores para que *Candida* pase de un estado comensal a parásito⁽¹⁴⁾. Enseguida se

mencionan algunos factores que predisponen al hospedero a la micosis.

Factores predisponentes ^(2,4,7,9,12,13).

1. Estados fisiológicos: prematurez, vejez y embarazo.
2. Factores locales: humedad, exposición ocupacional, oclusión cutánea, prótesis, heridas y quemaduras.
3. Endocrinopatías y enfermedades metabólicas: diabetes, obesidad, insuficiencia tiroidea, hiperuricemia, Síndrome de Cushing.
4. Enfermedades debilitantes: neoplasias, inanición y VIH-SIDA.
5. Medicamentos y otros tratamientos: hormonas sexuales (anticonceptivos), antibióticos de amplio espectro, corticoesteroides y citotóxicos.
6. Intervenciones quirúrgicas y otras medidas: cateterismo, intervención quirúrgica, nutrición parental, trasplantes, consumo de drogas por vía intravenosa.

La principal fuente de infección del humano es endógena lo cual ocurre principalmente por:

1. La pérdida de balance de la microbiota (por uso de antibióticos, variación del pH en un sitio anatómico o cúmulos de nutrientes como el glucógeno) ^(4,7).
2. Respuesta inmunológica inadecuada (dependiente de linfocitos T y B o por defectos en los leucocitos polimorfonucleares) ^(4,7).

En cambio, una infección exógena requiere de un inóculo muy importante, habitualmente aplicado a través de sondas, catéteres o procedimientos diagnósticos o terapéuticos invasivos realizados por el personal, como ya se indicó en líneas anteriores ^(4,5,7,8,9,15).

Sin duda, los factores predisponentes del hospedero son el elemento más importante, sin embargo, los factores de virulencia que determinan su relación con el hospedero (patogenia) son numerosos ⁽¹⁴⁾; entre ellos:

1. Morfogénesis: se refiere a la transición entre los blastoconidios (levaduras) y la forma de crecimiento de hifa o pseudohifa. La morfogénesis está bajo múltiples controles y rutas de transducción de señales y es uno de los atributos de virulencia que capacitan para invadir los tejidos^(4,16, 25).
2. Enzimas: tienen la capacidad de romper polímeros que proporcionan nutrientes accesibles para el crecimiento de los hongos, así como de inactivar las moléculas útiles en la defensa del organismo. Las principales enzimas extracelulares relacionadas con la patogénesis de *Candida* son las proteasas, queratinasas, hemolisinas, fosfolipasas y lipasas^(4,16, 25).
3. Adhesinas: se definen como biomoléculas que promueven la adherencia de los blastoconidios a las células del hospedero o a sus ligandos específicos; existen diferentes tipos de adhesinas en *Candida*, como Als, Hwp1p, Int1p y Mnt1p^(4,16, 25).
4. Formación de biopelículas: una biopelícula es una comunidad de microorganismos unidos irreversiblemente a una superficie que contiene matriz exopolimérica y que muestra propiedades fenotípicas distintivas. Hay dos consecuencias importantes y con profundas implicaciones clínicas en la formación de biopelículas: el marcado aumento en la resistencia a los agentes antifúngicos y la protección contra las defensas del hospedero^(4,16, 25).

3.5. Distribución de especies.

La candidosis sigue siendo la causa más importante de las micosis oportunistas en todo el mundo y la mayor causa de infecciones nosocomiales en torrente sanguíneo. Programas de vigilancia de micosis en humanos han proporcionado datos sobre la incidencia y la distribución de las especies de *Candida* aisladas en

muestras de sangre en todo el mundo, la mayoría de los datos epidemiológicos provienen de estudios realizados en el hemisferio norte, sin embargo, poco se ha reportado de los países de América Latina ⁽¹⁷⁾.

Brasil es una excepción, con información sobre las tasas de incidencia de candidemia, poblaciones de riesgo y tendencias en la distribución de especies, así como la resistencia a antimicóticos que se ha generado en los últimos 10 años ^(9,18).

Situación opuesta en México, dónde los estudios clínico-epidemiológicos orientados a determinar la incidencia de las infecciones ocasionadas por *Candida* en pacientes y su resistencia a antifúngicos son pocos y, aún más, escasos los enfocados a la población pediátrica.

De las especies de *Candida*, *C. albicans* prevalece en candidosis genital, oral, cutánea, broncopulmonar, SNC, intestinal y osteoarticular; dichas infecciones predominan en la mayoría de los reportes (60–80%), y aunque sigue siendo la especie más frecuente se ha observado una disminución del 7%-10% (1997-2005) en su prevalencia ^(2, 3, 4, 13).

Existe un incremento de casos ocasionados por especies diferentes a *C. albicans* que en conjunto se denominan no *albicans*; tales como: *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, entre otras ^(2,7); algunas de ellas resistentes a fluconazol, por lo que es preciso conocer de forma periódica la epidemiología en nuestro medio.

C. glabrata en Latinoamérica tiene una baja incidencia (4-6%), sin embargo, desde 1993, ha incrementado su frecuencia como causa de candidemia en Norte América (20-24%), ocupando actualmente el segundo o tercer lugar como el agente causal más común de la candidosis después de *C. albicans*, mientras que en Europa oscila entre el 9 y el 10% ^(3,13).

El complejo *C. parapsilosis* está conformado por tres especies: *C. parapsilosis*, *C.*

orthopsilosis y *C. metapsilosis*, el cual, es considerado patógeno exógeno y se encuentra como colonizador transitorio de uñas, de mucosas y puede generar endocarditis, otitis. Se asocia a infecciones adquiridas a través de las manos y de los ambientes hospitalarios así como con nutrición parenteral y cirugías recientes que requieran catéteres intravenosos. En Latinoamérica esta especie está distribuida en todos los rangos de edad, incluyendo neonatos, grupo que es el más frecuentemente afectado por esta especie en Norteamérica y otras regiones del mundo ^(2,3,13).

C. tropicalis es considerada una causa importante de candidosis invasora en pacientes con cáncer, especialmente con leucemia, neutropenia y en trasplante de células madre. Prevalece en candidosis vaginal, broncopulmonar, SNC, intestinal y osteoarticular; en América Latina y Asia, su incidencia en candidemia es mayor del 15% ^(3,4,13).

C. krusei es una especie considerada emergente debido al uso profiláctico con fluconazol; esta asociada principalmente a candidosis sistémicas (endocarditis) y afectar las mucosas ^(4,13).

En hospitales de tercer nivel se ha observado que la especie más frecuente aislada en fungemias en niños es *C. albicans* (25% en neonatos), seguida de *C. parapsilosis*, *C. krusei* y *C. tropicalis* ⁽⁵²⁾.

En niños en general se aísla más frecuentemente *C. albicans* (58%) seguida de *C. parapsilosis* (27%), con una relación estadísticamente significativa con colocación de catéter venoso central (CVC) en la vena femoral, el uso de catéteres tunelizados, prolongación de hiperalimentación así como candiduria ⁽⁵³⁾.

Su incidencia varía en relación a su localización geográfica, grupo etario considerado y factor de riesgo del paciente ⁽¹³⁾.

A continuación se muestra la tabla 3, de elaboración personal, que compara la distribución de especies de *Candida* encontradas en nuestro país, Centro Médico Nacional Siglo XXI, y lo reportado en la literatura para Europa, Norteamérica y

Latinoamérica.

Tabla 3. Comparación de la distribución de especies de *Candida* en población pediátrica y adulta.

Especies	USA	Canadá	América Latina	Europa	México
	Galván ⁽⁷⁾				Sánchez ⁽²⁾
<i>C. albicans</i>	55	60	45	58	54.80
<i>C. glabrata</i>	21	12	6	10	0.90
<i>C. parapsilosis</i>	11	16	25	19	14.45
<i>C. tropicalis</i>	9	6	16	7	9.93
<i>C. krusei</i>	2	2	1	1	2.40
<i>Candida sp.</i>	2	4	7	5	-----

3.6. Diagnóstico.

La toma de muestra puede ser variable, dependiendo de la localización de las lesiones, por lo que los productos biológicos que es posible recolectar son: exudados (lesiones cutáneas y mucosas), esputo, aspirado bronquial, escamas (piel y uñas), secreción vaginal, orina, materia fecal, líquido cefalorraquídeo, sangre, material de biopsia. Otros materiales que resultan útiles son los fragmentos de sondas, de catéteres y prótesis cardíacas^(4, 5, 11).

Para alcanzar el éxito en el diagnóstico es fundamental realizar adecuadamente la toma de muestra a partir de la lesión, su correcta manipulación, transporte y

procesamiento, la siembra de la misma en los medios idóneos a la temperatura y tiempo de incubación adecuados, así como la identificación e interpretación exacta de los aislamientos ^(29, 44).

La tabla siguiente resume la toma y procesamiento de las muestras más comunes en la candidosis.

Tabla 4. Recolección y procesamiento de muestras en candidosis ^(13, 29, 30).

Muestra	Recolección y procesamiento
Cavidad oral	Tomar con hisopo de la lesión activa e inocular directamente en el medio de cultivo distribuyendo la muestra y en un portaobjetos para el examen directo (ED) con KOH 20%.
Espujo, aspirado bronquial	Colocar la muestra en frasco estéril y procesar de inmediato o en su defecto conservar en refrigeración a 4 °C hasta por 4 - 6 hrs. Para tener un mejor diagnóstico se recomienda procesar tres muestras diferentes de esputo, siendo lo ideal cinco especímenes emitidos en días sucesivos. El aspirado bronquial se obtiene mediante un fibrobroncoscopio, se aspira secreciones del árbol bronquial, previa colocación de 5 - 10 mL de suero fisiológico. Una muestra para el ED con KOH 20% y otra para cultivos.
Piel	Raspar el borde de la lesión con un bisturí o portaobjetos, cuando existen lesiones satélites el raspado se realiza de dichas lesiones por ser las más jóvenes. Cuando las lesiones no suelen ser descamativas sino exudativa el material se recoge con torunda estéril. Una muestra para el ED con KOH 20% y otra para cultivos.
Uñas	Desinfectar con alcohol al 70% la zona afectada. Lesiones dorsales: raspar la superficie y desecharla, recoger la parte profunda. Lesiones subungueales o dístaes: recoger los residuos debajo de la

	<p>uña con bisturí o cucharilla de lecron eliminando las primeras porciones y posteriormente raspar la parte inferior de la uña.</p> <p>Lesiones periungueales: tomar escamas o exudado. Depositar la muestra entre dos portaobjetos o en caja Petri estéril para después realizar ED con KOH 20% y sembrar en medios de cultivo.</p>
Secreción vaginal	<p>Tomar con hisopo de la lesión activa e inocular directamente en el medio de cultivo distribuyendo la muestra y en un portaobjetos para el ED con KOH 20%.</p>
Orina	<p>Primera orina de la mañana en contenedor estéril con tapa de rosca, o la orina obtenida por sondaje. Se utiliza un volumen de 10 - 25 mL y se centrifuga a 2500 rpm, el sedimento se inocular en el medio de cultivo y otra parte es utilizada para el ED con KOH 20%. Si no se puede proceder con el análisis, refrigerar la muestra por un máximo de 2 hrs.</p>
Heces	<p>Si las heces son formadas homogeneizar con suero fisiológico estéril e inocular directamente en el medio de cultivo distribuyendo la muestra y otra parte se utiliza para el ED con KOH 20%.</p>
Líquido cefalorraquídeo	<p>Desinfectar la zona por punzar con yodopovidona al 2%. El médico debe de realizar la punción en los espacios intervertebrales L3 – L4, L4 – L5 ó L5 – S1. Recoger un volumen 2 - 5 mL en un tubo estéril con tapa de rosca. Transportar al laboratorio a temperatura ambiente. De no hacerlo conservar a temperatura ambiente por un máximo de 4 hrs. Centrifugar a 2500 rpm y del sedimento realizar ED con KOH 20% y siembra en medios de cultivo.</p>
Sangre	<p>Desinfectar la zona. Adultos: 8 – 9 mL, niños: 1 – 5 mL, lactantes: 1 – 2 mL y neonatos: 0.5 – 1 mL.</p> <p>Sistemas: Bactec™ MycoF/lytic (Becton- Dickinson) Bact Alert® (BioMerieux) Lisis-Centrifugación (Isolator, Wampole)</p>

	<p>La muestra debe ser inoculada de inmediato en el sistema de hemocultivo que el laboratorio trabaja y realizar ED con KOH 20%. Medios bifásicos de infusión cerebro – corazón. Menos de dos horas a temperatura ambiente; si es más de 24 horas, se debe mantener a 37°C. Cuando se utiliza Lisis-centrifugación no más de 4 horas a temperatura ambiente.</p>
Biopsias	<p>Usar estrictas condiciones de asepsia y tomar la muestra de la zona central de la lesión. Colocar la muestra en tubo o frasco estéril con tapa de rosca con solución salina isotónica estéril para evitar la desecación. Realizar ED con KOH 20% y siembra en medios de cultivo. De no ser procesada al momento, conservar a 4 °C por 2 - 4 hrs.</p>
Catéter	<p>Desinfectar con alcohol al 70% la zona cutánea alrededor de la inserción del catéter, retirarlo y en condiciones de asepsia cortar 5 cm del extremo distal e introducir en un contenedor estéril. Procesar de inmediato de lo contrario, conservar a 4 °C por un máximo de 24 horas, en este caso sumergir la muestra en solución salina estéril. . Realizar ED con KOH 20% y sembrar en medios de cultivo.</p>

En el diagnóstico de infecciones causadas por hongos se destacan fundamentalmente dos tipos de estudio: el examen directo y el cultivo.

3.6.1. Examen directo.

El examen microscópico con un aclarante, de preferencia hidróxido de potasio (KOH) al 10-20% o frotis teñidos con Gram, Giemsa, Wright, PAS, Calcoflúor o

Papanicolaou permite observar rápidamente abundantes blastoconidios de 2 a 4 μm de diámetro más pseudohifas e hifas ^(4,12,44).

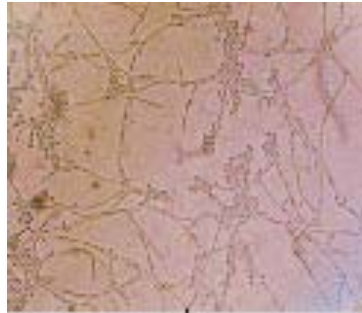


Figura 1. Examen directo de lesión de mucosa oral. Se observan blastoconidios abundantes + pseudofilamentos. Imagen parasitaria patogénica de candidosis.

3.6.2. Cultivos.

Los productos biológicos se siembran sobre medios de cultivo habituales como agar dextrosa de Sabouraud (ADS) simple o con cloranfenicol, gentamicina y cicloheximida (Actidione), agar de Micosel, agar de Biggy-Nickerson, agar infusión cerebro-corazón, agar sangre y agar soya tripticasa. Algunas especies de *Candida* como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* y *C. zeylanoides* inhiben su crecimiento con la cicloheximida (Actidione) por lo que se recomienda hacer siembras a la par en ADS, agar de Biggy-Nickerson y agar extracto de levadura ^(4,10, 44).

Las características de las colonias en la mayoría de los medios son similares, crecen a 28 o 37°C en dos o tres días, obteniendo colonias lisas, húmedas, de color blanco o ligeramente beige, limitadas, brillantes u opacas; con el tiempo se hacen plegadas, rugosas o membranosas y en ocasiones se observa pseudomicelio y micelio dentro del agar ^(4,10,12).



Figura 2. Colonias mucoides, circulares, ligeramente elevadas, húmedas, de color blanco en medio agar dextrosa de Sabouraud de *C. albicans*.

El medio agar de Biggy-Nickerson, medio selectivo para el género *Candida*, contiene gran cantidad de citratos que inhiben el crecimiento de bacterias, y sulfitos que son reducidos a sulfuros, creciendo así colonias con una coloración café con brillo metálico ^(6,12).

Actualmente el tiempo necesario para la identificación de *Candida spp.* se ha facilitado y acortado en forma considerable con el desarrollo de medios cromogénicos, lo cuales son medios selectivos y diferenciales para el aislamiento de algunas especies de estas levaduras, que proporcionan al mismo tiempo la diferenciación directa y la identificación de varias especies de *Candida*. Estos hongos levaduriformes producen enzimas que reaccionan con sustratos cromogénicos en el medio, produciendo colonias de diferentes colores. Estas enzimas son específicas, lo que permite algunas levaduras ser identificadas a nivel de especie por su color y características coloniales. Una de las principales ventajas de estos medios es permitir diferenciar fácilmente los cultivos mixtos. En la actualidad, existen en el mercado una gran variedad de medios cromógenos que pueden diferir en cuanto a sensibilidad, especificidad y costo, entre los más utilizados se encuentran el medio CHROMagar *Candida* y Candiselect ⁽¹⁹⁾.

En el medio CHROMagar *Candida* las colonias de *C. albicans* aparecen como verde claro, *C. tropicalis* como colonias azul oscuro a azul metálico, *C. krusei* rosa claro o pálido, *C. glabrata* rosa oscuro y *Candida sp* aparecen de color blanco-crema, todo después de la incubación durante 48 horas a 30 - 37 ° C (Figura 3). Informes

recientes han sugerido las colonias color verde oscuro para indicar la presencia de *C. dubliniensis*, sin embargo, no puede ser utilizado esto como único criterio para la diferenciación de esta especie de *C. albicans* ^(4, 19, 32).



Figura 3. Morfología colonial en medio CHROMagar Candida: a) *C. albicans*, b) *C. glabrata*, c) *C. krusei*, d) *C. tropicalis* y d) *Candida sp.*

3.7. Tipificación.

La identificación se hace fácilmente en cualquiera de los medios de aislamiento descritos anteriormente, sin embargo, la identificación convencional de *Candida* se basa en el medio ADS, que requiere alrededor de 48 a 72 horas con una temperatura de incubación de 28 o 37°C para el desarrollo de las colonias ^(4, 20).

Adicionalmente, su tipificación se basa en el análisis de las características fisiológicas, (como la prueba del tubo germinal o la termotolerancia), evaluación de características morfológicas (como inducir la formación de clamidoconidios), pruebas bioquímicas como el auxonograma y zimograma (asimilación y fermentación de carbohidratos respectivamente), prueba de la ureasa, resistencia a la cicloheximida (actidione), métodos inmunológicos y en aislados dudosos, la genotipificación ^(4, 21).

3.7.1. Filamentación en suero.

Es una de las pruebas más sencilla, rápida, económica y más utilizada, como prueba preliminar para la identificación del 90-95% de los aislados de *C. albicans* y *C.dubliniensis*, conocida también como prueba del tubo germinal. Se realiza tradicionalmente en un tubo que contiene 0,5ml de suero (suero humano o sueros con glucosa, glucosamina o sales de amonio), al cual se le inocula la cepa en estudio y se incuba a 37 °C durante 2 a 2 ½ horas, después se realiza un examen en fresco con algún colorante o tinción (Gram). *Candida albicans* y *C. dubliniensis*, forman una pequeña prolongación filamentosa proveniente de los blastoconidios de aproximados 5 a 15 µm de largo, sin constricción en el punto de origen, semejante a “un espejo de mano”, esta formación constituye el llamado tubo germinal. Sin embargo, se remarca que después del periodo indicado de incubación, todas las especies de *Candida* pueden formar tubos germinativos con excepción de *C. glabrata* ^(4,21,44).

3.7.2. Producción de clamidoconidios.

La formación de clamidoconidios es una característica morfológica específica de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis* muy usada en el laboratorio, junto con la prueba de filamentación en suero, ésta constituye una herramienta sencilla y de bajo costo para fines de identificación. Los clamidoconidios son estructuras de resistencia, redondas u ovales de 6 a 12 µm de diámetro y de doble membrana ^(4, 31).

Tradicionalmente la producción de clamidoconidios se puede lograr *in vitro* mediante el cultivo de las levaduras en un medio pobre en nutrientes suplementado con un tensoactivo (por ejemplo, Tween 80 al 1%), incubándose a temperatura

ambiente (25°C) en un periodo de 48-72 horas, y preferentemente bajo la limitación de oxígeno y en la oscuridad ^(4,22,23). Para realizar la observación se coloca un cubreobjetos sobre la colonia y posteriormente la caja se sitúa sobre la platina del microscopio; todas las especies de *Candida* presentan pseudohifas largas, ramificadas y con cúmulos de blastoconidios con excepción de *C. glabrata*, que no forma hifas ni pseudohifas ⁽³³⁾.

Los medios como el agar harina de maíz y agar extracto de arroz, son los más conocidos para la formación de clamidoconidios, siendo para *C. albicans* terminales y únicos mientras que para *C. dubliniensis* son múltiples y con un número significativamente mayor (Figura 4) ^(22,23).

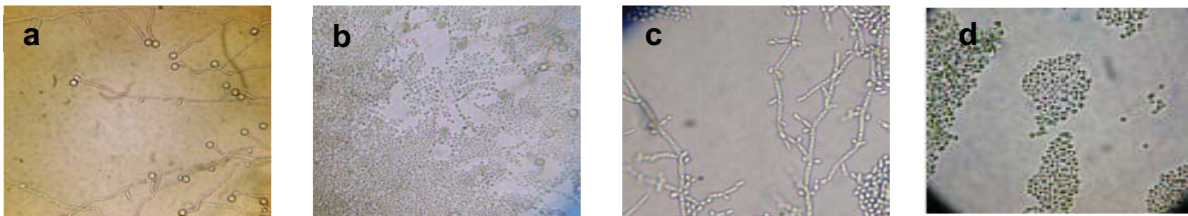


Figura 4. Micromorfología en agar harina de maíz + tween 80: a) *C. albicans*, b) *C. dubliniensis*, c) *Candida* sp y d) *C. glabrata*.

3.7.3. Pruebas bioquímicas.

Las pruebas bioquímicas comprenden una serie de ensayos basados en la fermentación (zimograma) y utilización (auxonograma) de carbohidratos permitiendo la identificación de especies ^(4, 12).

Zimograma: debe llevarse a cabo en medio de cultivo líquido con una proporción de carbohidrato entre 1 y 5%, añadiéndole un indicador para pH ácido como el rojo fenol o púrpura de bromocresol y una campana de fermentación para detectar la producción de gas. Los medios se siembran a partir de colonias jóvenes de 24 a 48 horas de desarrollo diferenciadas y se incuban a 25°C de 5 a 15 días, la lectura se realiza por el viraje del indicador así como la formación de gas ^(4, 6, 12).

Auxonograma: se realiza en medio sólido base peptonado, libre de carbohidratos, los cuales se adicionan en forma de penicilindros o sensidiscos; con anticipación se siembra la cepa problema y el carbohidrato a investigar se aplica en una solución de 1 al 2%, posteriormente se incuba a 25°C de 5 a 15 días; el crecimiento de la colonia alrededor del disco indica una lectura positiva. Éste método también puede realizarse en tubos, empleando soluciones acuosas que contienen el carbohidrato a investigar ^(4, 6, 12).

En la actualidad se han comercializado métodos basados en estos fundamentos, los cuales se encuentran estandarizados y simplificados en forma de sustratos liofilizados; a diferencia de las pruebas convencionales, que pueden tomar entre 5 a 15 días, éstos sistemas permiten la identificación del género-especie en un lapso menor (24-48 h) y los resultados pueden ser leídos en forma visual o automática a través de un Software ⁽³⁴⁾. Entre éstos métodos podemos encontrar los sistemas: Auxacolor[®] (Biorad), API[®] 20C AUX (bioMérieux[®] SA), Galería ID 32C[®] (bioMérieux[®]SA), Sistema Vitek 2[®] (bioMérieux[®]), Rapid Yeast Identification Panel MicroScan[®] (Dade Behring) ^(35, 36).

API[®] 20C AUX (bioMérieux[®] SA): se compone de 20 cúpulas con sustratos deshidratados que permiten realizar 19 pruebas de asimilación. Las cúpulas se inoculan con un medio mínimo semi-agar y las levaduras crecen solamente si son capaces de utilizar el sustrato correspondiente. La galería se incuba 48-72 h a 29 ± 2°C. La lectura de éstas reacciones se realiza observando el crecimiento de las levaduras en comparación con la cúpula del control negativo. Una cúpula más turbia que el testigo indica un desarrollo positivo que debe anotarse en la hoja de resultados, en la cual, los diferentes nutrientes están separados en grupos de tres y se asigna a cada uno, en caso de ser positivo, un valor diferente: 1 para el primero, 2 para el segundo y 4 para el tercero. Sumando cada triplete se obtiene un número de siete cifras que constituye el perfil numérico que puede interpretarse mediante un catálogo analítico o un programa informático (ATB[™] mini API o apiweb[™]).

Permite la identificación de 34 especies de levaduras distintas ^(35, 36, 57).

Galería ID 32C[®] (bioMérieux[®] SA): está constituida por 32 cúpulas (29 sustratos deshidratados, 1 control negativo, 1 sensibilidad a la cicloheximida y la última prueba colorimétrica para la esculina). La levadura a estudiar se pone en suspensión en un medio semi-sólido para inocular la galería, posteriormente se incuba de 24-48 h a 29± 2°C. Al igual que el sistema API[®] 20C AUX una cúpula más turbia que el testigo indica un crecimiento o desarrollo positivo que debe anotarse en la hoja de resultados, en la cual, los diferentes nutrientes están separados en grupos de tres y se asigna a cada uno, en caso de ser positivo, un valor diferente: 1 para el primero, 2 para el segundo y 4 para el tercero. Sumando cada triplete se obtiene un número de diez cifras que constituye el perfil numérico que puede interpretarse mediante un catálogo analítico o con el sistema ATB[™] Expression[™] o mini API[®]. Permite identificar 63 especies ^(35, 36, 58).

Rapid Yeast Identification Panel MicroScan[®] (Dade Behring): se basa en la utilización de pruebas convencionales y cromogénicas en una placa de microdilución de 96 pocillos que utiliza 27 sustratos deshidratados y permite identificar 40 especies diferentes. Se rehidratan los sustratos con una suspensión concentrada de la levadura en agua esterilizada, se incuban a 35-37°C durante 4 h. Para la lectura deben añadirse los reactivos correspondientes a cada pocillo, incluyendo los controles. La interpretación se puede realizar de forma visual o automatizada, los resultados se convierten en un número de nueve dígitos y la identificación se realiza utilizando el libro de códigos de biotipos para levaduras de MicroScan ^(35, 36, 59).

3.8. Tratamiento.

El tratamiento dependerá de las formas clínicas, sin embargo, como principio general del tratamiento es indispensable estabilizar el factor predisponente del

paciente ⁽¹⁵⁾.

El tratamiento puede ser desde lavados con soluciones acidas o básicas para los casos de candidosis oral, vaginal o del área del pañal para restablecer el pH además del uso de un antifúngico tópico; los de elección son los imidazoles o la nistatina. Para la candidosis ungueal que no presente paroniquia se utiliza la presentación en laca de la ciclopiroxolamina o amorolfina. En los casos crónicos, sistémicos, granulomatosos o que no respondan a los tratamientos tópicos es necesario tratamiento sistémico ⁽⁴⁾, los antifúngicos de elección se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 5. Antimicóticos empleados en el tratamiento sistémico de candidosis ^(4, 26, 27, 28).

Clase	Antimicótico	Mecanismo de acción	Dosis en niños	Mecanismos de resistencia fúngicos
Polienos	Anfotericina B desoxicolato.	Alteración de las propiedades de la membrana celular mediante la unión al ergosterol.	0.75 - 1mg/kg/día IV.	Sustitución del ergosterol por otros esteroides precursores.
	Anfotericina B lipídica.		3 - 5 mg/kg/día IV.	
	Anfotericina B liposomal.		3 - 5 mg/kg/día IV.	
	Anfotericina B dispersión coloidal		5 - 7.5 mg/kg/día IV.	
Pirimidinas	5-Fluorocitosina	Inhibición de la síntesis de ácidos	100 mg/kg c/6 hrs VO.	Perdida de la permeabilidad necesaria para

		nucleícos.		transporte de citosina, o mutaciones en el gen que codifica la citosina desaminasa y pirofosforilasa.
Azoles	Imidazoles: Ketoconazol	Inhibición de la síntesis de ergosterol al interactuar con la enzima 14 α -desmetilasa (alteración de la membrana celular).	3 - 5mg/Kg/día VO.	Alteraciones en el gen ERG11. Aumento del flujo de salida del azol. Mayor producción de desmetilasa.
	Triazoles: Itraconazol		2.5 - 5mg/kg/día VO o VI.	
	Fluconazol		6 - 12 mg/kg/día VO o IV.	
	Voriconazol		200 mg VO ó 6 mg/kg IV (1 ^{er} día) y 100 mg VO ó 4 mg/kg IV (días posteriores).	
	Posaconazol		400 mg VO c/12 hrs. Profilaxis 200 mg VO c/8 hrs.	

Equinocandinas	Caspofungina	Inhibición de la síntesis de glucano al interactuar con la 1,3 β-glucano sintetasa (alteración de las propiedades de la pared celular).	70 mg/m ² IV (1 ^{er} día) y 50 mg/m ² IV (días posteriores).	Mutaciones en el gen FKS1 que codifica una subunidad de 1,3 β-glucano sintetasa.
----------------	--------------	---	---	--

3.9. Sensibilidad a antimicóticos.

El incremento de las infecciones fúngicas oportunistas durante las últimas décadas, junto con la aparición de resistencias a los diversos antifúngicos disponibles, hacen necesario el uso de técnicas para determinar la sensibilidad *in vitro* que permitan detectar la resistencia a antimicóticos y elegir la mejor opción de tratamiento a fin de reducir la probabilidad del fracaso terapéutico ^(44, 51).

Actualmente, hay disponibles dos estándares para determinar la sensibilidad antifúngica *in vitro*: el “Clinical and Laboratory Standards Institute” (CLSI) en Estados Unidos y el propuesto por el “European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing” (EUCAST) en Europa (en sus documentos M27-A3 y EDef 7.1, respectivamente); ambos utilizan la microdilución en caldo aunque difieren en el tamaño del inóculo, tiempo de incubación y en su lectura. El CLSI ha establecido puntos de corte para clasificar las cepas como sensibles, sensibles dosis-dependiente y resistentes para algunos antifúngicos frente a ciertos hongos, mediante la concentración mínima inhibitoria (CMI); además ha estandarizado la medición de susceptibilidad por medio de la difusión en disco (M44-A) ^(37, 38, 44, 51).

La laboriosidad y complejidad de los métodos estandarizados los hace poco prácticos desde el punto de vista rutinario y por la creciente demanda de éstos, de modo que la aparición de métodos comerciales, de sencilla y rápida ejecución que puedan tener utilidad clínica, marca una vez consolidado el método de referencia, la aceptación y utilización en el laboratorio de micología ⁽⁴⁵⁾.

Entre éstos destacan los que se basan en la microdilución marcados con contrastes colorimétricos como: Sensititre[®] Yeast One (Trek Diagnostic Systems Inc), ASTY[®] colorimetric panel (ASTY Inc.) y Fungitest[™] (Biorad). Estos métodos muestran una buena concordancia con los resultados obtenidos mediante los estándares del CLSI y pueden constituir una alternativa para los laboratorios clínicos. Otros métodos comerciales, que muestran una buena correlación con los estándares, son las técnicas de difusión en agar con discos o tabletas de antifúngicos como el NeoSensitabs[®] (A/S Rosco), o el E-test[®] (AB Biodisk) ^(44, 45, 46).

El sistema Fungitest[™] (Biorad) consiste en una galería con pocillos que incorporan concentraciones discriminantes para conocer la sensibilidad a anfotericina B (2 y 8 µg/ml), 5-fluorocitosina (2 y 32 µg/ml), miconazol (0,5 y 8 µg/ml), ketoconazol (0,5 y 4 µg/ml), itraconazol (0,5 y 4 µg/ml) y fluconazol (8 y 64 µg/ml). La placa contiene 16 pocillos: 2 controles positivos, 2 controles negativos y 12 con los antifúngicos deshidratados; el medio utilizado es RPMI 1640 tamponado y suplementado con glucosa, además contiene un indicador de oxido-reducción (azul alamar) que cambia su color de azul (ausencia de crecimiento) a rosa (crecimiento). Los pocillos se inoculan con suspensiones de 10³ UFC/ml y se incuban 48h a 35°C. La lectura permite identificar cepas sensibles (ausencia de crecimiento en los dos pocillos), resistentes (crecimiento en ambos pocillos) e intermedias o dosis-dependiente (crecimiento en el pocillo de menor concentración) ^(46, 47).

El sistema Sensititre[®] Yeast One (Trek Diagnostic Systems Inc) se basa en una técnica de microdilución en medio líquido RPMI 1640 con glucosa y un indicador de crecimiento de oxido-reducción (azul alamar) que permite determinar la sensibilidad

in vitro de forma cuantitativa y por un cambio colorimétrico. La galería consta de 96 pocillos y contiene 5 antifúngicos deshidratados a concentraciones dobles seriadas: anfotericina B (0.008-16 µg/ml), fluconazol (0.125-256 µg/ml), itraconazol (0.008-16 µg/ml), ketoconazol (0.008-16 µg/ml) y 5-fluorocitosina (0.03-64 µg/ml); el control de crecimiento está incluido en el primer pocillo de la primera fila (1A), es decir, sólo hay seis filas ocupadas de las ocho filas de la placa. Los pocillos se inoculan con suspensiones de $1.5 - 8 \times 10^3$ UFC/ml, se sellan con papel autoadhesivo y se incuban a 35 °C, durante 24-48 h. La lectura de los resultados se realiza observando la variación del color (azul a rosa) que está asociado al desarrollo del inóculo; la CMI de los azoles y la 5-fluorocitosina se lee a las 24 h de incubación mientras que para anfotericina B debe leerse a las 48 h. La CMI de anfotericina B es la concentración más baja de antifúngico que no muestra cambio de color, es decir, el primer pocillo azul. En los azoles y la 5-fluorocitosina no hay siempre un paso de azul a rosa, sino que puede aparecer un color intermedio púrpura (debido al efecto *trailing*); en este caso la CMI es la concentración del primer pocillo púrpura (46, 47, 49, 50).

3.9.1. Mecanismos de resistencia.

La resistencia es un cambio de sensibilidad o susceptibilidad del hongo frente al antimicótico que puede medirse *in vitro* por métodos de laboratorio apropiados. La resistencia se dice que ocurre cuando el crecimiento del patógeno no es inhibido por la concentración del antimicótico en un régimen de dosificación ya establecido (38). La resistencia puede ser primaria (intrínseca) o secundaria (adquirida). La primaria se encuentra naturalmente en el hongo levaduriforme sin exposición previa al antimicótico mientras que la secundaria se desarrolla entre las cepas previamente susceptibles tras la exposición al agente antifúngico y suele depender de expresión de genes alterados (39, 40, 42).

1. Resistencia a azoles ^(38, 39, 40, 41):

- Disminución de la concentración del fármaco: la inducción de bombas de flujo resulta en la expulsión del azol de la célula fúngica. Existen dos tipos de bombas, los transportadores ABC (unión al ATP) codificados por los genes CDR, la sobreexpresión de éstos lleva a la expulsión de todos los azoles, mientras que los transportadores MFS (facilitadores mayores) codificados por los genes MDR, sólo se relacionan con la resistencia a fluconazol.
- Alteración del sitio blanco: mutaciones puntuales en el gen ERG11, el cual codifica para la enzima 14 α -lanosterol desmetilasa, provocan un cambio en el sitio activo e impiden que los azoles se puedan unir con el citocromo P-450.
- Sobreexpresión de la enzima blanco: las altas concentraciones intracelulares de la enzima 14 α -lanosterol desmetilasa hacen que el azol no pueda inhibir efectivamente la síntesis de ergosterol.
- Desarrollo de una ruta alternativa: la mutación del gen ERG3, el cual codifica para la enzima $\Delta^{5,6}$ esterol desaturasa, suprime la formación del 14 α -metilergosta-8,24(28)-dien-3 β ,6 α -diol (metabolito tóxico) y conduce a la acumulación del 14 α -metilfecosterol reemplazando así al ergosterol.

2. Resistencia a 5-Fluorocitosina ^(39, 41, 42).

- Mutaciones en el gen que codifica para la citosina permeasa (resistencia intrínseca).

- Mutaciones en los genes que regulan la fosforilación de los productos derivados de la 5-Fluorocitosina como el 5-Fluorouridina trifosfato (5-FUTP) y 5Fluorodesoxiuridina monofosfato (5-Fd-UMP) o la pérdida del control por retroalimentación de la biosíntesis de las pirimidinas (resistencia adquirida).

3. Resistencia a polienos ^(39, 40, 42).

- Mutaciones en el gen ERG3 conduce a la acumulación del 14 α -metilfecosterol en la membrana fúngica, reemplazando así al ergosterol.
- La resistencia a Anfotericina B también puede ser mediada por aumento de actividad de la catalasa, disminuyendo de esta forma el daño oxidativo provocado por el antimicótico.

4. Resistencia a equinocandinas ^(38, 39, 41, 50).

- Mutaciones puntuales en dos regiones “hot-spot” (HS1 y HS2) del gen FKS1, el cual codifica para la subunidad mayor de la 1,3 β -glucano sintetasa.

Aunque la resistencia a anfotericina B entre las cepas de *Candida* sigue siendo poco frecuente, la resistencia intrínseca se observa con frecuencia en *C. lusitanae*. Por otra parte informes recientes han demostrado un aumento de la CMI a anfotericina B entre cepas de *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. albicans* y *C. tropicalis* ^(39, 42, 43).

Los azoles son eficaces contra el género *Candida*, aunque algunos compuestos de

este grupo son más activos que otros en distintos casos. Fluconazol es muy activo frente a especies de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. lusitaniae*. Sin embargo, *C. krusei* es intrínsecamente resistente, y especies como *C. glabrata* y *C. guilliermondii* han reducido la susceptibilidad a fluconazol; por otro lado, en pacientes con SIDA se han encontrado algunas cepas de *C. albicans* resistentes a éste antifúngico ^(2, 39, 42, 43).

Con excepción de *C. glabrata*, el itraconazol es eficaz contra la mayoría de las especies de *Candida* susceptibles y resistentes a fluconazol ^(2, 39, 42, 43).

El voriconazol es activo contra la mayoría de *Candida spp*, incluyendo las especies de *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. krusei* resistentes a fluconazol. Posaconazol ejerce actividad fungicida frente a especies no *albicans* incluyendo *C. krusei* y *C. lusitaniae*, pero es fungistático frente a *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* ⁽⁴³⁾.

En general, las tasas de resistencia a los azoles entre las especies de *Candida* siguen siendo bajas, con tasas reportadas de 1.0% - 2.1% en *C. albicans*, 0.4% - 4.2% en *C. parapsilosis* y 1.4% - 6.6% en *C. tropicalis*, mientras que la incidencia de resistencia a fluconazol en *C. glabrata* aumentó de 9% en 2001 al 14% en 2007 de acuerdo con datos del Programa de vigilancia antifúngico ARTEMIS, en Estados Unidos ^(38, 39).

In vitro las equinocandinas son muy activas frente a *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis* y *C. krusei*, menos activas contra *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* y *C. lusitaniae*, siendo los valores de CIM más altos para estos patógenos que otras especies de *Candida* ^(39, 43, 50).

La prevalencia de resistencia primaria a la 5-Fluorocitosina en *Candida* se mantiene baja (1% - 2%), sin embargo, no se suele administrar en forma de monoterapia debido a que la resistencia puede ocurrir en varios pasos del mecanismo de acción, de modo que se suele combinar con otros agentes, en particular con anfotericina B ^(39, 42, 43).

4. JUSTIFICACIÓN.

El presente trabajo resulta de saber que las infecciones ocasionadas por las especies de *Candida* tienen un impacto importante en la morbilidad, con una mortalidad que oscila entre el 15 y 35 % en adultos y entre el 10 y 15 % en neonatos y niños ⁽³⁾, conforme a datos publicados por Del Palacio y colaboradores.

Las infecciones ocasionadas por hongos levaduriformes del género *Candida*, especialmente *C. albicans*, predominan en la mayoría de los reportes (60–80%). Existe un incremento de casos ocasionados por especies diferentes a *C. albicans* que en conjunto se denominan no *albicans*; tales como: *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, entre otras ^(2, 24).

El Instituto Nacional de Pediatría, hospital de tercer nivel, recibe diariamente pacientes con enfermedades que requieren atención especializada, endocrinopatías, enfermedades debilitantes, entre otras, esto conduce a que sean un foco significativo de infecciones, como es el caso de las especies de *Candida*. Aunado a esta situación, y sabiendo los factores de riesgo que existen hasta la fecha, no se cuenta con una evaluación objetiva que nos proporcioné un panorama epidemiológico de esta micosis en los distintos servicios de esta institución.

Sin embargo, la importancia de clarificar y conocer la incidencia de las especies de *Candida*, causantes de infecciones en la población pediátrica, va más allá del mero conocimiento epidemiológico; por ello los datos obtenidos sobre la tipificación de la especie y la determinación del perfil de susceptibilidad, plasmados en el presente proyecto, pueden contribuir a darnos un panorama del comportamiento de este género así como la mejora del diagnóstico y la elección rápida y certera del tratamiento, todo esto con el objetivo de brindarle al paciente una mejor calidad de vida.

5. OBJETIVOS.

5.1. Objetivo general:

Analizar la incidencia y distribución de *Candida spp* aisladas en pacientes pediátricos y su sensibilidad a los antimicóticos disponibles en el Instituto Nacional de Pediatría de la Ciudad de México.

5.2. Objetivos particulares:

- Elaborar una base de datos de la población pediátrica hospitalizada de 0 a 18 años de edad con resultado positivo para *Candida spp*, en diversos cultivos, desde enero de 2008 a febrero de 2012.
- Identificar la especie de *Candida* que se presenta en pacientes pediátricos con mayor incidencia.
- Determinar la incidencia y distribución de las diferentes especies de *Candida* de acuerdo a edad, género y servicio.
- Identificar la susceptibilidad de las cepas aisladas de *Candida* en los pacientes pediátricos a distintos antimicóticos utilizados en el INP (Período comprendido de enero 2009 a febrero 2012).

6. HIPÓTESIS.

Hipótesis de trabajo.

Candida albicans es la especie con mayor incidencia aislada en las muestras clínicas que llegan al área de Micología del Laboratorio de Parasitología y Micología en el Instituto Nacional de Pediatría, sin embargo, se observará un aumento en los aislamientos de las especies *no albicans*.

7. MATERIAL Y MÉTODOS.

Mediante un estudio retrospectivo, observacional, estadístico descriptivo comprendido de enero de 2008 a febrero de 2012, se llevó a cabo una revisión de los registros del Laboratorio de Parasitología y Micología del Instituto Nacional de Pediatría; se estudiaron los casos de la población pediátrica hospitalizada de 0 a 18 años de edad con resultado positivo para *Candida spp*, en diversas muestras ingresadas de las distintas áreas clínicas del hospital. Los datos recolectados en los registros del laboratorio de micología fueron: edad, género, servicio, tipo de muestra, examen directo, cultivo, tipificación y sensibilidad antimicótica, ésta última únicamente abarcó desde enero de 2009 a febrero de 2012.

7.1. Universo de trabajo.

Todos los registros clínicos obtenidos en el Laboratorio de Parasitología y Micología de pacientes que ingresaron al Instituto Nacional de Pediatría, con resultado positivo en varias muestras para especies de *Candida*, en el período de enero de 2008 a febrero de 2012, ambos géneros y edades comprendidas de 0 a 18 años.

7.2. Criterios de selección.

Criterios de inclusión:

- Pacientes pediátricos de 0 a 18 años de edad con resultado positivo de cultivo y examen directo de la muestra clínica para *Candida spp*, en el caso de muestra sanguínea únicamente con resultado positivo para cultivo.
- Pacientes ingresados en el periodo de enero de 2008 a febrero de 2012.

- Ambos géneros.

Criterios de exclusión:

- Pacientes que se encontraron fuera del tiempo establecido para el estudio.
- Pacientes mayores de 18 años.
- Cepas que no se identificaron como *Candida* spp (Cepas que se identificaron como bacterias, hongos filamentosos u otros hongos levaduriformes).

Criterios de eliminación:

- Pacientes con registros incompletos.

7.3. Procedimientos.

En párrafos siguientes se explican brevemente los métodos utilizados por el personal del Laboratorio de Micología y Parasitología del INP y de los cuales surgen los datos recolectados para el siguiente documento.

a) Obtención de cepas y examen directo.

Las muestras de orina, sangre (obtenidas por el medio BACTEC™ Myco/F Lytic, 37°C), aspirado bronquial, cavidad oral, heces, expectoración, líquido peritoneal, secreción vaginal, escamas de piel y uñas provenientes de pacientes fueron

sembradas en Agar Dextrosa Sabouraud e incubadas a 28°C durante 48 h, del cual se aislaron cepas de *Candida sp.* Asimismo, se les realizó un examen directo con KOH al 10% con la finalidad de observar las formas parasitarias.

b) Tipificación de cepas.

Las cepas aisladas fueron inoculadas en medio CHROMagar que permite la formación de colonias coloridas perfectamente diferenciadas (*C. albicans* como verde claro, *C. tropicalis* azul metálico, *C. krusei* rosa claro con halo blanco); aquellas que no fue posible identificarlas por medio cromogénico se tipificaron por los métodos Panel para identificación rápida de levaduras MicroScan[®] autoSCAN[®]-4, que permite la identificación de las levaduras utilizando pruebas convencionales y cromogénicas y API[®] 20C AUX, éste se basa en pruebas bioquímicas para la identificación de levaduras.

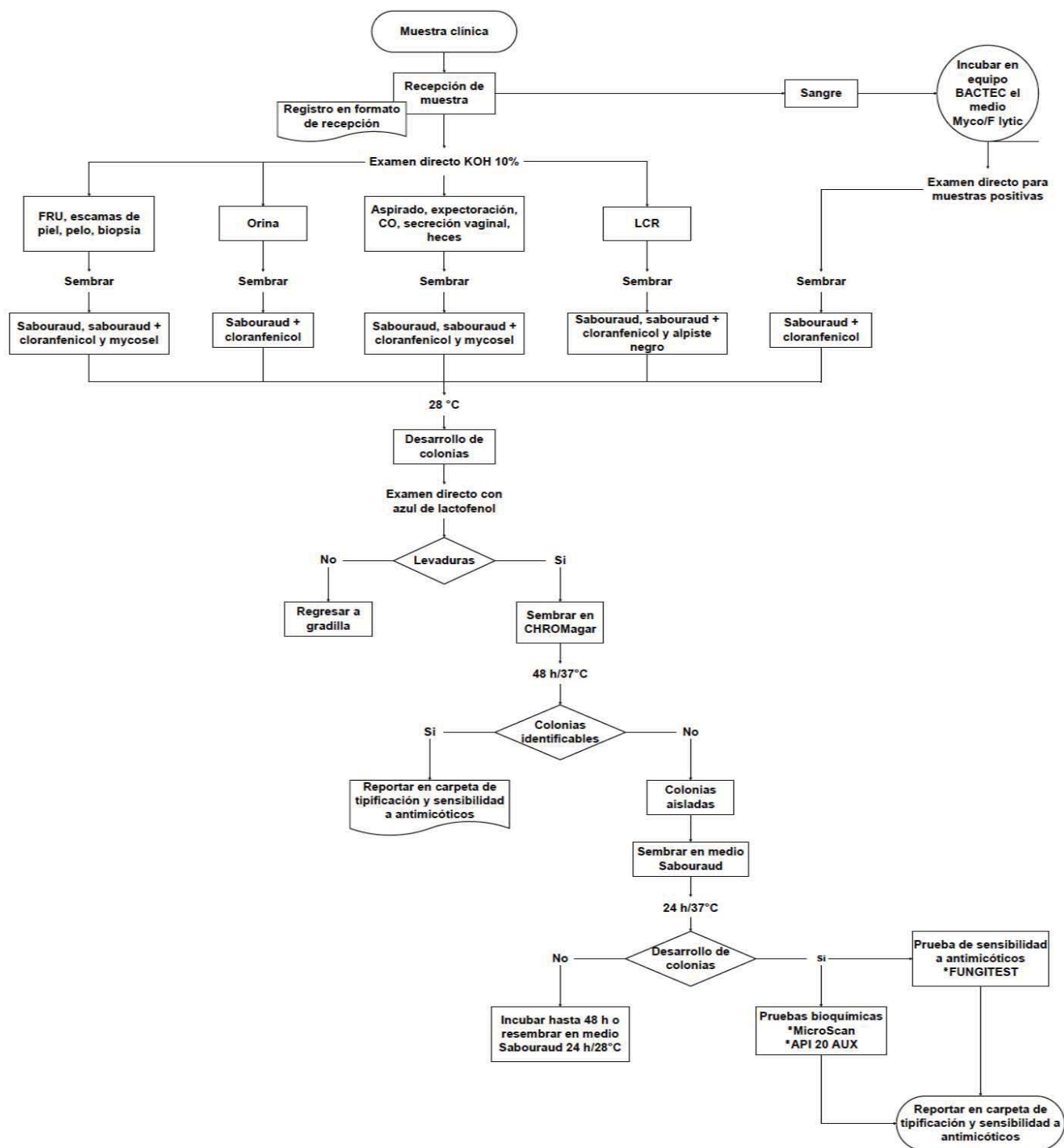
c) Pruebas de sensibilidad.

Este tipo de prueba se realizó mediante el sistema FUNGITEST[™] que consiste en una galería con pocillos que incorporan concentraciones discriminantes para conocer la sensibilidad a anfotericina B, fluconazol, itraconazol, ketoconazol 5-fluorocitosina y miconazol a 2 diferentes concentraciones.

d) Análisis estadístico.

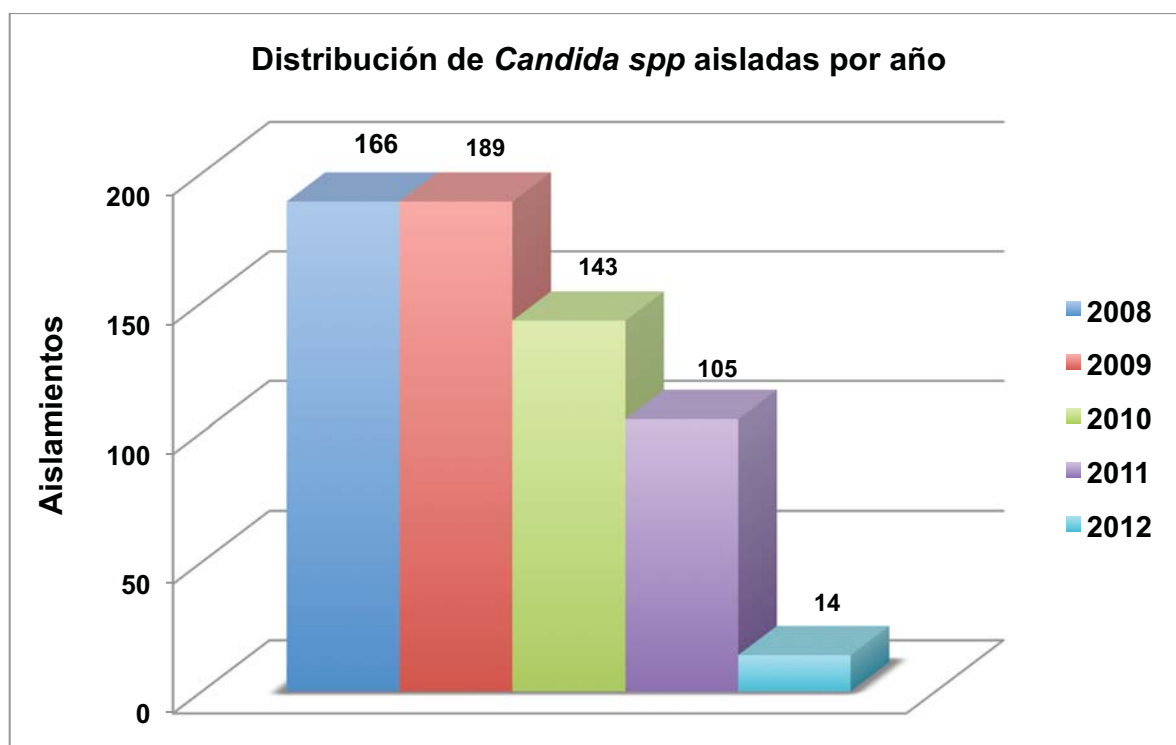
Se realizó mediante estadística descriptiva para las variables demográficas.

Figura 5. Diagrama de flujo de la metodología seguida en el laboratorio en el periodo de enero de 2008 a febrero de 2012.



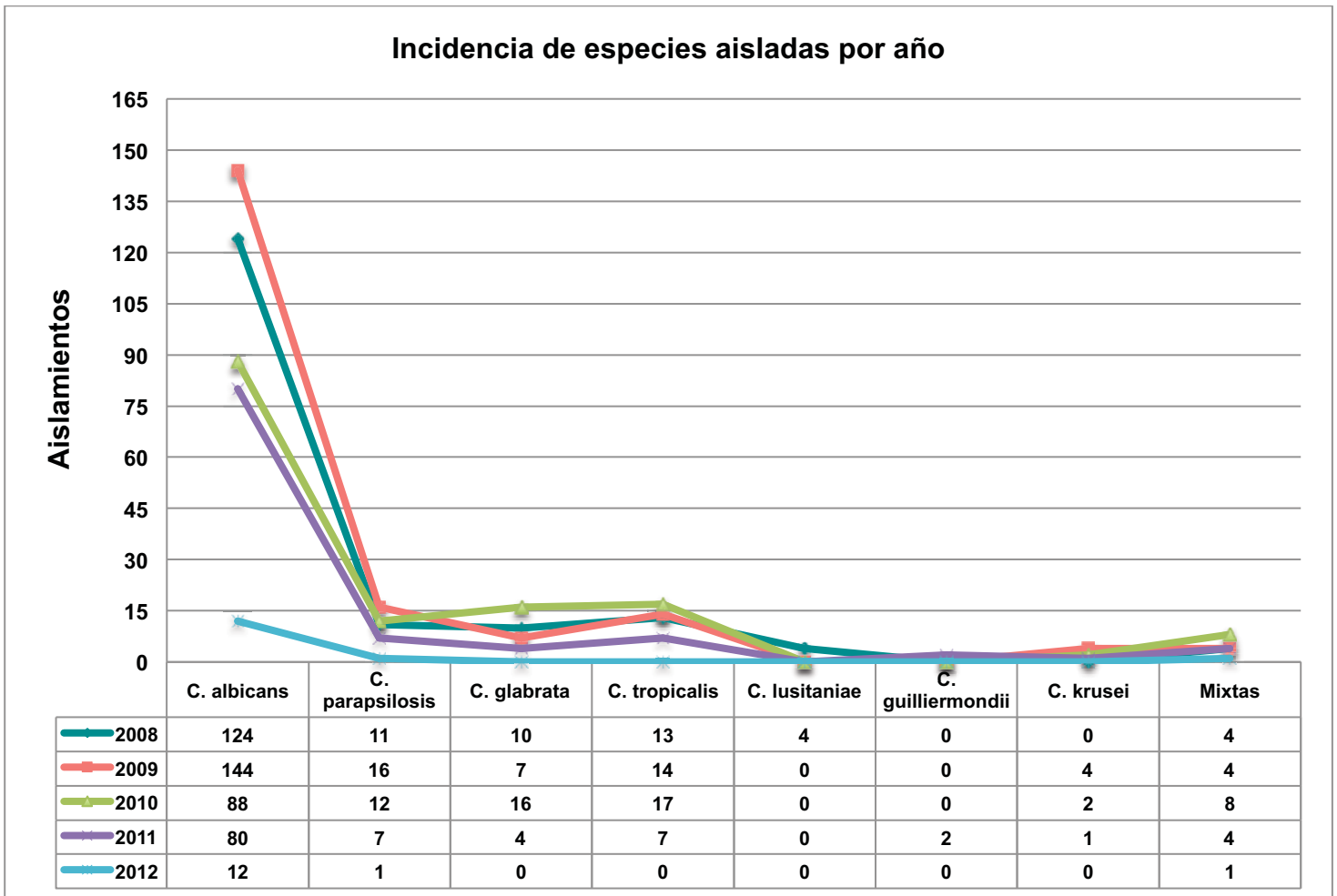
8. RESULTADOS.

De enero de 2008 a febrero de 2012 el número total de aislamientos clínicos que obtuvieron un resultado positivo para *Candida spp* fue de 617, la distribución por año puede observarse en la gráfica 1.



Gráfica 1. Distribución de *Candida spp* aisladas por año.

De los 617 aislamientos: 448 (72.61%) corresponden a *C. albicans* y 148 (23.99%) a *Candida no albicans*, en los 21 (3.40%) aislamientos restantes se observó la presencia de más de una especie de *Candida*. La incidencia de especies tipificadas de *Candida* para cada año se aprecia en la siguiente gráfica.



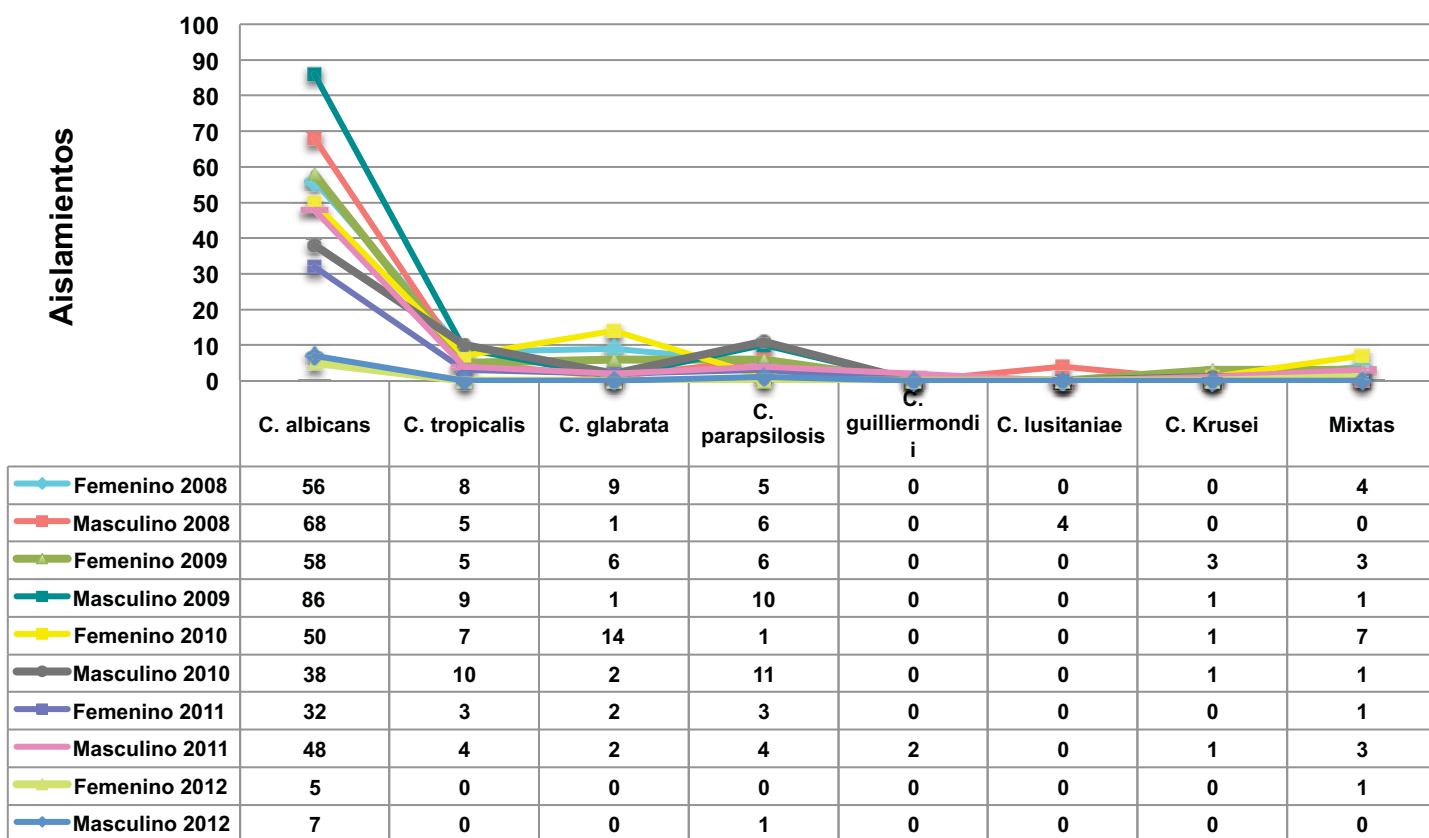
Gráfica 2. Incidencia de especies aisladas por año.

En los casos donde hubo presencia de más de una especie de *Candida* (aislamientos mixtos), se tuvieron asociaciones de *C. albicans* con *C. tropicalis* (6), *C. albicans* con *C. glabrata* (9), *C. albicans* con *C. parapsilosis* (3), *C. tropicalis* con *C. glabrata* (2) y *C. glabrata* con *C. krusei* (1).

Para las variables de género, edad y servicio médico se obtuvieron los siguientes resultados:

De los aislamientos totales, 47% (290) perteneció al género femenino y 53% (327) al género masculino. La incidencia de cada especie por género por año se observa a continuación.

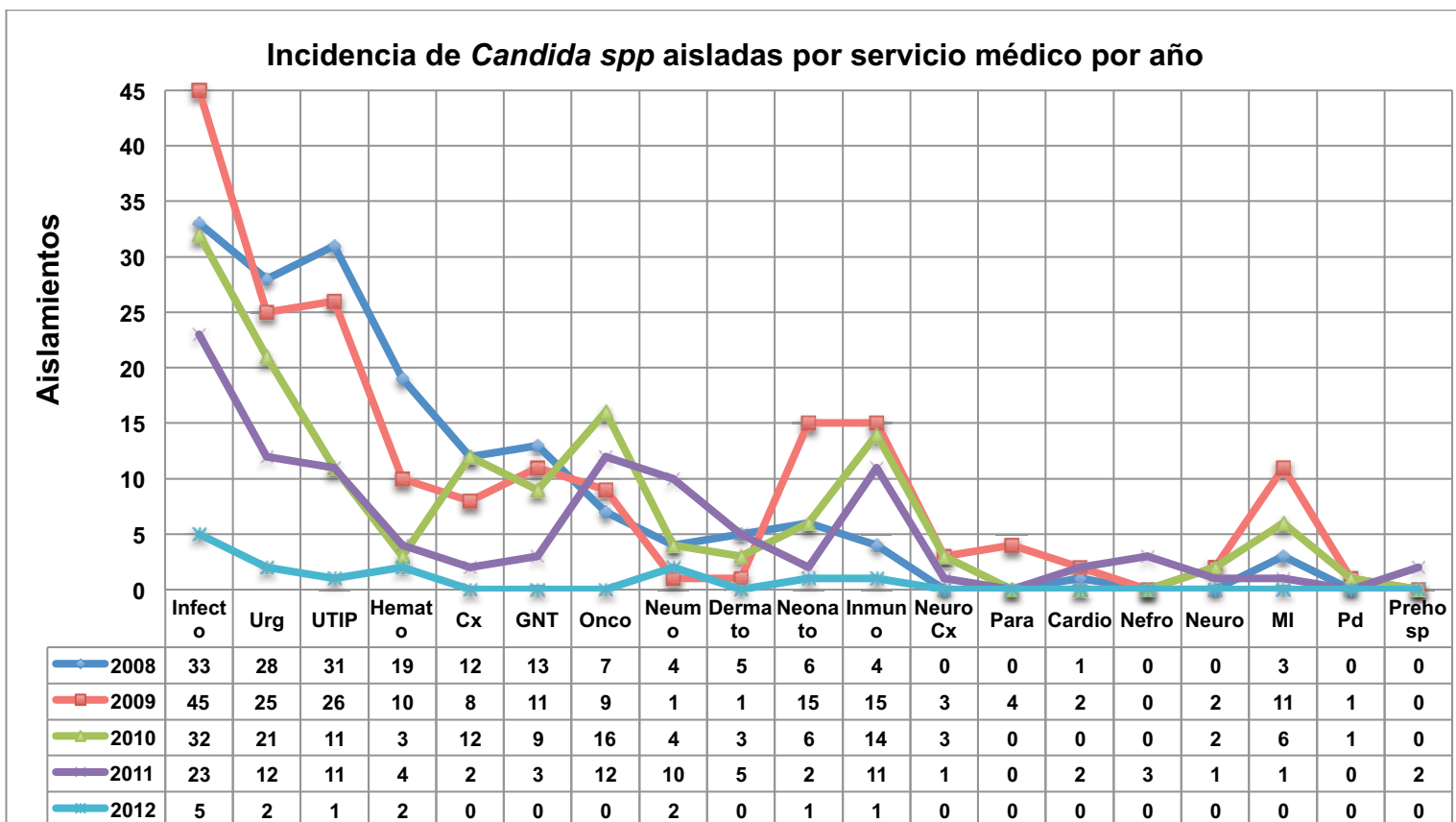
Incidencia de especies aisladas por género por año



Gráfica 3. Incidencia de especies aisladas por género por año.

Los servicios médicos con mayor cantidad de aislamientos positivos para *Candida* fueron: infectología 22.36% (138), urgencias 14.26% (88), unidad de terapia intensiva pediátrica 12.96% (80), inmunología 7.29% (45), oncología 7.13% (44) y hematología 6.15% (38).

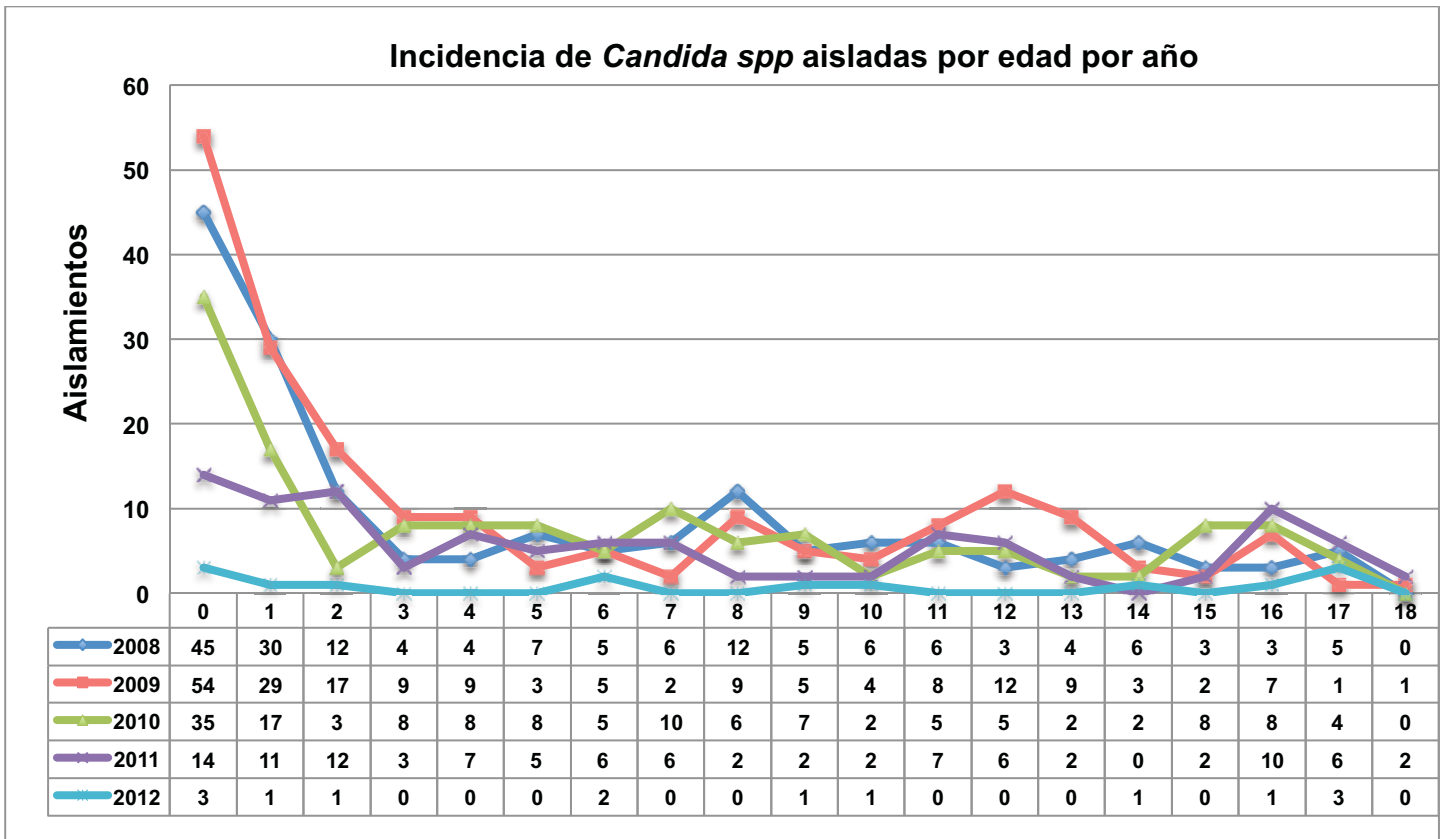
La incidencia por año en los distintos servicios médicos se muestra en la gráfica siguiente.



Gráfica 4. Incidencia de *Candida spp* aisladas por servicio médico por año. Claves: Infecto= Infectología; Urg= Urgencias; UTIP= Unidad de terapia intensiva pediátrica; Hemato= Hematología; Cx= Cirugía; GNT= Gastronomía; Onco= Oncología; Neumo= Neumología; Dermato= Dermatología; Neonato= Neonatología; Inmuno= Inmunología; NeuroCx= Neurocirugía; Para= Parasitología; Cardio= Cardiología; Nefro= Nefrología; Neuro= Neurología; MI= Medicina interna; Pd= Pediatría; Prehosp= Prehospitalización.

Se pudo observar que la población más susceptible a contraer infecciones por algún tipo de *Candida* son los pacientes menores de un año (151) que representaron 24.47% de los aislamientos totales.

La gráfica siguiente permite observar la incidencia que tuvo *Candida spp* por edad durante el tiempo de estudio.



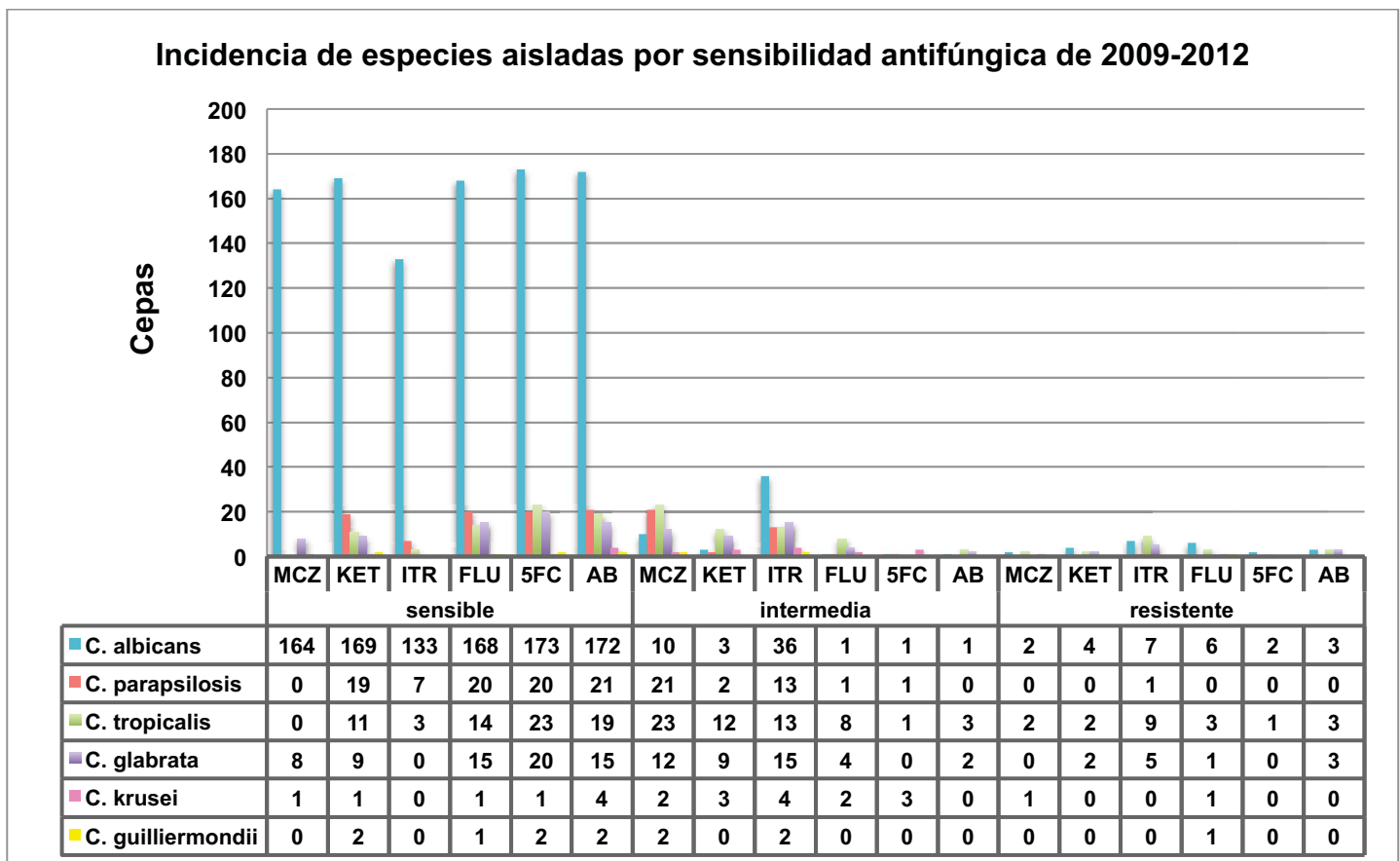
Gráfica 5. Incidencia de *Candida spp* aisladas por edad por año.

Durante el periodo comprendido de enero 2009 a febrero de 2012, 267 cepas de *Candida* se sometieron a prueba de sensibilidad utilizando el kit comercial FUNGITEST™. Los resultados obtenidos de la sensibilidad antifúngica se observan en la siguiente tabla.

		<i>Especies</i>					
2009-2012	Agente antifúngico	<i>C. albicans</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. guilliermondii</i>
		(176)	(21)	(25)	(20)	(4)	(2)
sensible	MCZ	164	0	0	8	1	0
	KET	169	19	11	9	1	2
	ITR	133	7	3	0	0	0
	FLU	168	20	14	15	1	1
	5FC	173	20	23	20	1	2
	AB	172	21	19	15	4	2

intermedia	MCZ	10	21	23	12	2	2
	KET	3	2	12	9	3	0
	ITR	36	13	13	15	4	2
	FLU	1	1	8	4	2	0
	5FC	1	1	1	0	3	0
	AB	1	0	3	2	0	0
resistente	MCZ	2	0	2	0	1	0
	KET	4	0	2	2	0	0
	ITR	7	1	9	5	0	0
	FLU	6	0	3	1	1	1
	5FC	2	0	1	0	0	0
	AB	3	0	3	3	0	0

Tabla 5. Susceptibilidad antifúngica de especies aisladas de enero de 2009 a febrero de 2012. Claves: MCZ= Miconazol; KET= Ketoconazol; ITR= Itraconazol; FLU: Fluconazol; 5FC= 5 Fluorocitosina; AB= Anfotericina B.



Gráfica 5. Incidencia de especies aisladas por sensibilidad antifúngica de enero de 2009 a febrero de 2012.

9. DISCUSIÓN.

Durante los últimos años se ha reportado un incremento dramático en la incidencia de infecciones causadas por hongos levaduriformes y hongos filamentosos. Las ocasionadas por levaduras del género *Candida*, especialmente *Candida albicans*, han sido con mucho las más frecuentes (60 – 80 % de los casos), sin embargo, existe un incremento de casos ocasionados por especies diferentes a *C. albicans* que en conjunto se denominan no *albicans*; tales como: *Candida krusei*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii*, entre otras ^(2, 24).

En hospitales de tercer nivel se ha observado que la especie más frecuente aislada en fungemias en niños es *C. albicans* (25% en neonatos), seguida de *C. parapsilosis*, *C. krusei* y *C. tropicalis* ⁽⁵²⁾. En niños en general se aísla más frecuentemente *C. albicans* (58%) seguida de *C. parapsilosis* (27%), con una relación estadísticamente significativa con colocación de catéter venoso central (CVC) en la vena femoral, el uso de catéteres tunelizados, prolongación de hiperalimentación así como candiduria ⁽⁵³⁾.

En un estudio realizado en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, Sánchez-Huerta y col.,⁽²⁾ reportaron a *C. albicans* (54%) como la especie más frecuente mientras que *C. parapsilosis* (15%) y *C. tropicalis* (8%) ocuparon el segundo y tercer lugar en frecuencia.

En este estudio, los datos obtenidos evidencian a *C. albicans* como el principal agente de candidosis en pacientes pediátricos hospitalizados, con una incidencia del 72.61%, mientras que la incidencia de especies *no-albicans* fue del 23.99%, siendo las especies más frecuentes *C. tropicalis* 8.66% (51), *C. parapsilosis* 7.62% (47) y *C. glabrata* 5.99% (37) seguidas de *C. krusei* 1.13% (7), *C. lusitaniae* 0.65% (4) y *C. guilliermondii* 0.32% (2); además es de mencionarse la alta incidencia de las infecciones mixtas 3.40% (casos de asociación de dos especies del género *Candida*).

Respecto a la distribución por género, Bonifaz ⁽⁴⁾ ha detallado que la enfermedad afecta a los dos sexos por igual, sólo los casos genitales son más frecuentes en la mujer por la condición anatómica de la vagina y diversos factores como: el embarazo, cambios de pH o una baja de la respuesta inmune; en este estudio se observó 47% de los aislamientos para el género femenino y 53% para el masculino, lo cual no nos indica una diferencia significativa y coincide con lo mencionado en líneas anteriores donde únicamente en infecciones genitales es posible apreciar un contraste de género.

En la distribución de *Candida spp* por edades, el mayor número de aislamientos, se encontraron en menores de 1 año, 151 (24.47%), seguido de 88 (14.26%) de 1 año y 45 (7.29%) de 2 años. Se pudo observar que la población más susceptible a contraer infecciones por algún tipo de *Candida* es en la etapa neonatal que comprende de 0 a 29 días de vida y en la etapa de lactante que abarca de 30 días a 2 años, escenario que muchas veces ocurre, debido a la infección de las mucosas al entrar en contacto en el canal de parto, sobre todo cuando la madre cursó con candidosis en el último trimestre del embarazo ^(4, 54). Sin embargo no es el único factor de riesgo, según Zaoutis y Walsh ⁽⁵⁵⁾, se asocian también factores como: peso muy bajo, prematuridad, uso de antibióticos de amplio espectro por tiempo prolongado, catéteres venosos centrales, nutrición parenteral, corticosteroides, puntuación < 5 en el test de Apgar, intubación o estancia superior a 7 días en unidad de cuidados intensivos neonatales antecediendo a la candidosis, colonización gastrointestinal con *Candida*, malformaciones principalmente congénitas ^(54, 55).

Por otro lado, en la etapa preescolar que comprende de 3 a 5 años se tuvieron 75 aislamientos (12.16%), en la etapa escolar de 6 a 10 años, 111 (17.97%), en la adolescencia temprana de 11 a 14 años, 81 (13.12%), en la adolescencia tardía de 15 a 18 años, 66 (10.70%). En población pediátrica, los niños con enfermedades hemato-oncológicas, receptores de trasplantes, cirugía gastrointestinal, así como

con nutrición parenteral total, tienen riesgo de desarrollar candidosis ⁽³⁾.

Sánchez-Huerta y col.,⁽²⁾ reportaron cifras de 29.05% aislamientos en etapa neonatal, 21.22% en lactantes, 12.29% en preescolares y 19.55% en escolares, datos coincidentes con lo reportado en este estudio.

Los recién nacidos adquieren infecciones por *C. albicans* ya sea a través de la transmisión vertical (de la madre) o a partir de fuentes ambientales (contaminación cruzada) ⁽⁵⁴⁾.

Los servicios que presentaron mayor incidencia de aislamientos positivos de *Candida spp* fueron: infectología 22.36% (138), urgencias 14.26% (88), unidad de terapia intensiva pediátrica (UTIP) 12.96% (80), inmunología 7.29% (45), oncología 7.13% (44) y hematología 6.15% (38). Respecto a las especies de *Candida* identificadas, se puede apreciar que *C. albicans* es la especie más frecuente seguida de *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. glabrata*; estas especies *no-albicans* tuvieron mayor incidencia en los servicios de infectología, urgencias y la UTIP, mientras que los aislamientos mixtos adquirieron mayor incidencia en infectología y urgencias.

Los resultados muestran que son los servicios donde los pacientes son sumamente vulnerables por su fragilidad inmunológica, presencia de enfermedades crónicas, neutropenia, enfermedad hemato-oncológica, catéteres intravasculares, nutrición parental, uso de antibióticos de amplio espectro por tiempo prolongado, estancia en unidad de terapia intensiva, recién nacidos, pacientes trasplantados, con enfermedad por VIH/SIDA y la coexistencia de algunos otros factores de riesgo ya descritos.

Conforme a los datos obtenidos de susceptibilidad a los antimicóticos se observó un comportamiento variado con el grupo de los azoles, la mayoría de las cepas de *C. albicans* fueron sensibles mientras que para las especies *no albicans* se percibió un número similar de cepas sensibles que sensibles dosis dependiente, lo que

posiblemente se deba, como mencionan algunos autores, a la indicación de terapia empírica y profilaxis irracional, basada fundamentalmente en el uso de itraconazol, fluconazol y ketoconazol, lo que ha llevado a la selección de especies diferentes a *C. albicans* (*C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, etc.) y a la aparición de diversos patrones de susceptibilidad en este género ⁽²⁾.

Para miconazol: 164 cepas de *C. albicans* (93.18%), 8 de *C. glabrata* (40%), 1 de *C. krusei* (25%) fueron sensibles; 21 de *C. parapsilosis* (100%), 23 de *C. tropicalis* (92%), 12 de *C. glabrata* (60%), 2 de *C. krusei* (50%) y 2 de *C. guilliermondii* (100%) resultaron sensibles dosis dependiente (intermedias); 2 cepas de *C. albicans* (1.14%), 2 de *C. tropicalis* (8%) y 1 de *C. krusei* (25%) como resistentes.

Para ketoconazol: 2 cepas de *C. guilliermondii* (100%), 169 de *C. albicans* (96.02%), 19 de *C. parapsilosis* (90.47%), 11 de *C. tropicalis* (44%) y 9 de *C. glabrata* (45%) fueron sensibles, sin embargo, 12 de *C. tropicalis* (48%), 9 de *C. glabrata* (45%), 3 de *C. krusei* (75%) fueron intermedias y presentaron resistencia 2 de *C. tropicalis* (8%), 2 de *C. glabrata* (10%) y 4 de *C. albicans* (2.27%).

Itraconazol: 133 cepas de *C. albicans* (75.56%), 7 de *C. parapsilosis* (33.33%) y 3 de *C. tropicalis* (12%) fueron sensibles; la mayoría de cepas *no albicans* resultaron intermedias, siendo, 13 de *C. parapsilosis* (61.90%), 13 de *C. tropicalis* (52%), 15 de *C. glabrata* (75%), 4 de *C. krusei* (100%) y 2 de *C. guilliermondii* (100%), mientras que *C. albicans* tuvo 36 (20.45%).

Además, fue el antifúngico dónde nuestras cepas presentaron mayor resistencia, 7 de *C. albicans* (3.98%), 1 de *C. parapsilosis* (4.76%), 9 de *C. tropicalis* (36%) y 5 de *C. glabrata* (25%).

Fluconazol: 168 de *C. albicans* (95.45%), 20 de *C. parapsilosis* (95.24%), 14 de *C. tropicalis* (56%) y 15 de *C. glabrata* (75%) resultaron sensibles; dentro de las cepas sensibles dosis dependiente destacaron 8 de *C. tropicalis* (32%), 4 de *C. glabrata* (20%) y 2 de *C. krusei* (50%), en cuanto a cepas resistentes se presentaron 6 de *C.*

albicans (3.41%), 3 de *C. tropicalis* (12%), 1 de *C. glabrata* (5%), 1 de *C. krusei* (25%) y 1 de *C. guilliermondii* (50%).

La mayor parte de nuestras cepas resultaron sensibles a 5-Fluorocitocina, no obstante, 2 cepas de *C. albicans* (1.14%) y 1 de *C. tropicalis* (4%) presentaron resistencia, esto probablemente indica la resistencia intrínseca, pues en México no se encuentra este antimicótico y, por lo tanto, puede suponerse que estas cepas nunca habían tenido contacto con la 5-Fluorocitocina ⁽⁴⁰⁾, además, al menos una de cada especie resultó sensible dosis dependiente con excepción de *C. glabrata* y *C. guilliermondii*.

Respecto a la anfotericina B, la mayor parte de las cepas fueron sensibles, sin embargo, 1 cepa de *C. albicans* (0.57%), 3 de *C. tropicalis* (12%), 2 de *C. glabrata* (10%) fueron intermedias, y 3 de *C. albicans* (1.70%), 3 de *C. tropicalis* (12%), 3 de *C. glabrata* (15%) presentaron resistencia, dichos resultados son similares con la observación que Gutiérrez-Martínez y col ⁽⁴⁰⁾ hicieron en México y como lo enfatiza, dichos resultados son importantes porque este antimicótico es el tratamiento de elección para la candidosis sistémica y terapia de rescate para candidosis sin respuesta a azoles, y al igual que en dicho estudio, también pueden observarse cepas que comienzan a tener resistencia.

10. CONCLUSIONES.

Con base en los resultados obtenidos en el presente trabajo se concluye lo siguiente:

- En el periodo de estudio se encontraron 617 aislamientos con resultado positivo para *Candida spp* en diversos cultivos.
- La *Candida* con mayor incidencia en nuestros pacientes pediátricos fue *C. albicans*.
- En cuanto a edad los pacientes más afectados fueron los menores de 1 año encontrándose a *C. albicans* como la especie más incidente seguida de *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*.
- Se obtuvo 47% de aislamientos para el género femenino y 53% para el masculino, teniendo que *C. albicans* fue la más incidente en ambos géneros seguida de *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, respectivamente.
- Los servicios con mayor incidencia fueron infectología, urgencias, UTIP, inmunología, oncología y hematología, siendo *C. albicans* la que ocupó la primera posición seguida de *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. glabrata*.
- La especie más susceptible a todos los antimicóticos fue *C. albicans* y el antimicótico que presentó mejor eficacia fue la Anfotericina B.

11. REFERENCIAS

1. <http://www.pediatria.gob.mx/asmedica.html> Consulta realizada el jueves 9 de abril de 2015; 15:57 hrs.
2. Sánchez, G.; Díaz H.; Miranda, G. (2004). Epidemiología de las infecciones sistémicas por *Candida* en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI. *Bol Med Hosp Infant Mex*, 61: 289-296.
3. Del Palacio, A.; Villar, J.; Alhabrama, A. (2009). Epidemiología de las candidiasis invasoras en población pediátrica y adulta. *Rev Iberoam Micol*, 26(1): 2-7.
4. Bonifaz A. (2010). *Micología Médica Básica*. (3ª ed). México: Mc Graw Hill.
5. López, R.; Méndez L. J.; Manzano P.; Hernández F. (2009). Principios de micología médica: Clínica, diagnóstico y terapéutica. México: Méndez Editores.
6. López, R.; Méndez L. J.; Hernández F.; Castañón, R. (2004). *Micología Médica: Procedimientos para el diagnóstico de laboratorio*. (2ª ed). México: Editorial Trillas.
7. Galvan, B.; Mariscal, F. (2006). Epidemiología de la candidemia en UCI. *Rev Iberoam Micol*, 23: 12-15.
8. Sardi, J.; Scorzoni, L.; Bernardi, T.; Fusco-Almeida A.; Mendes, M. (2013). *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology*, 62: 10–24.
9. Sorti, L.; Pasquale, G.; Scomarim, R.; Galastri, A. L.; Alterthum, F.; Gambate, W.; Paula C. (2012). *Candida* spp. isolated from inpatients, the environment, and health practitioners in the Pediatric Unit at the University Hospital of the Jundiaí Medical College, State of São Paulo, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*, 45(2): 225-231.
10. Martínez, M. (2006). El género *Candida*. En : Méndez, L. J.; López, R.; Hernández, F. *Actualidades en Micología Médica*. Cap. 37. Ed. (pp. 215-221). México. Fac Medicina UNAM.

11. Dignani, M.; Solomkin, J.; Anaissie, E. (2009). Candida. In: Anaissie, E.; McGinnis, M.; Pfaller, M. Clinical Mycology. Chapter. 8. Ed. (pp. 197-227). Philadelphia: Churchill Livingstone.
12. Arenas, R. (2011). Micología médica ilustrada. (4ª ed). China: Interamericana McGraw-Hill.
13. De Bedout, C.; Gómez, B. (2010). Candida y candidiasis invasora: un reto continuo para su diagnóstico temprano. *Infectio*, 14(S2): S159-S171.
14. Manzano, P. Candidosis. (2006). En : Méndez, L. J.; López, R.; Hernández, F. Actualidades en Micología Médica. Cap. 38. Ed. (pp: 223-228). México: Fac Medicina UNAM.
15. Romero, R. (2007). Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. (3ª ed). México: Editorial Médica Panamericana, S.A. de C.V.
16. Sobel, J. D. (2008). Candidiasis. In: Diagnosis and Treatment of Human Mycoses. Hospenthal, D. R.; Rinaldi, M. G. Chapter 7. Ed. (pp: 137-161). United States of America: Humana Press.
17. Nucci, M.; Queiroz, F.; Tobón, A. M.; Restrepo, A.; Colombo, A. L. (2010). Epidemiology of Opportunistic Fungal Infections in Latin America. *Clinical Infectious Diseases*, 51(5): 561–570.
18. Lopes, A.; Thompson, L.; Graybill, J. (2008). The North and South of Candidemia: Issues for Latin America. *Drugs of Today*, 44 (Suppl. A): 1-34.
19. Murray, M.; Zinchuk, R.; Larone, D. (2005). CHROMagar Candida as the Sole Primary Medium for Isolation of Yeasts and as a Source Medium for the Rapid-Assimilation-of-Trehalose Test. *J. Clin. Microbiol*, 43(3): 1210-1212.
20. Madhavan, P.; Jamal, F.; Chong, P.; Ng, K. (2011). Identification of local clinical *Candida* isolates using CHROMagar Candida™ as a primary identification method for various *Candida* species. *Tropical Biomedicine*, 28(2): 269–274.
21. Duartea, A.; Márqueza, A.; Araujob, C.; Pérez, C. (2009). Modalidades de la Prueba del Tubo Germinal. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*, 29: 66-68.

22. Zavalza, A.; Ortiz, B.; García, M.; Castillo, M.; Bonifaz, A. (2006). Rapid Production of *Candida albicans* Chlamydospores in Liquid Media under Various Incubation Conditions. *Jpn. J. Med. Mycol*, 47 (3): 231-234.
23. Juárez, K.; Araiza, J.; Bonifaz, A. (2007). Formación de clamidoconidios de *Candida albicans* y *C. dubliniensis* en diferentes medios líquidos y condiciones de incubación. *Rev Mex Micol*, 25: 27-31.
24. Reséndiz, S.; Morales, A. (2007). Factores asociados a mortalidad por fungemias causadas por *Candida sp* en niños. *Bol Med Hosp Infant Mex*, 64:91-98.
25. Castrillón, L.; Palma, A.; Padilla, C. (2005). Factores de virulencia en *Candida sp*. *Dermatología Rev Mex*, 49(1): 12-27.
26. Odio, C. (2010). Terapia antifúngica para neonatos, niños y adolescentes con micosis invasiva sospechada o documentada. *Drugs of Today*, 46 (Suppl C): 33-46.
27. Zaoutis, T.; Benjamin, D.; Steinbach, W. (2005). Antifungal treatment in pediatric patients. *Drug Resistance Updates*, 8: 235–245.
28. Vásquez, E.; Arenas R. (2007). Antimicóticos en niños. *Dermatol Pediatr Lat*, 5(3): 155-164.
29. Rezusta, A.; Sánchez, A.; Gil J. Fundamentos básicos para el diagnóstico micológico. (2007). En : Pemán, J.; Martín, E.; Rubio, M. Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica. (2ª ed). Cap. 3. Ed. (pp: 1-22). Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología.
30. Guevara, M.; Urcia, F.; Casquero, J. (2007). Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas: Serie de Normas Técnicas N.º 44. Lima: Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.
31. Mendoza, M. (2005). Importancia de la identificación de levaduras. *Rev Soc Ven Microbio*, 25 (1): 15-23.
32. Horvath, L.; Hospenthal, D.; Murray, C.; Dooley D. (2003). Direct Isolation of *Candida spp.* from Blood Cultures on the Chromogenic Medium CHROMagar *Candida*. *J. Clin. Microbiol*, 41(6): 2629-2632.

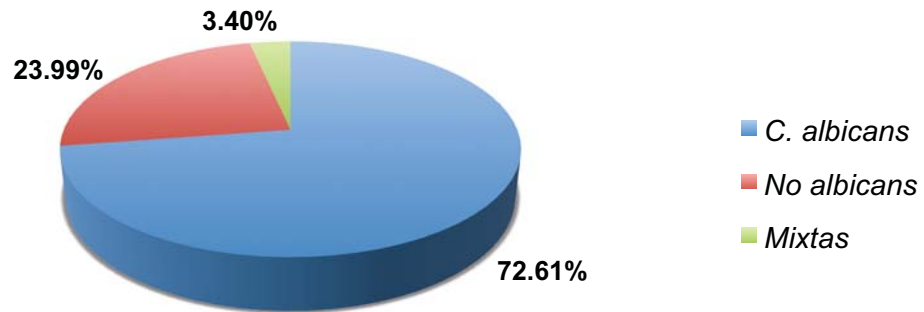
33. Garnica, E.; Araiza, J.; Moncada, D.; Arroyo, S.; Bonifaz, A. (2009). Evaluación de sensibilidad y especificidad del agar Harina de maíz + tween 80, CHROMagar Candida® y MicroScan® para la identificación de especies aisladas de *Candida*. *Lab-acta*, 21(4): 79-84.
34. Guilarte, C.; Pardi, G. (2009). Pruebas para identificar especies de *Candida* en cavidad bucal. *AOV*, 47(3): 1-7.
35. Castro, C.; Martín, E. (2004). Diagnóstico de la infección fúngica por levaduras del género *Candida*: *Candida dubliniensis*. *SEIMC*, 1-10.
36. Linares, M.; Solís, F. (2007). Identificación de levaduras. En : Pemán, J.; Martín, E.; Rubio, M. Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica. (2ª ed). Cap. 11. Ed. (pp: 1-20). Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología.
37. Tapia, C. (2012). Antifúngicos y resistencia. *Rev Chilena Infectol*, 29(3): 357.
38. Pfaller, M. (2012). Antifungal drug resistance: Mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. *Am. J. Med*, 125(1A): S3–S13.
39. Kanafani, Z.; Perfect, J. (2008). Resistance to Antifungal Agents: Mechanisms and Clinical Impact. *CDI*, 46: 120-128.
40. Gutiérrez, M.; Araiza, J.; Hernández, M.; Chávez, J.; Rodríguez, O.; Bonifaz, A. (2012). Estudio in vitro de antimicóticos contra cepas de *Candida* aisladas de pacientes del Hospital General de México OD. *Dermatol Rev Mex*, 56(2):93-101.
41. Cuenca, M. (2010). Antifúngicos en el tratamiento de las infecciones sistémicas: importancia del mecanismo de acción, espectro de actividad y resistencias. *Rev Esp Quimioter*, 23(4): 169-176.
42. Sanglard D. (2002). Clinical relevance of mechanisms of antifungal drug resistance in yeast. *Enfer Infect Microbiol Clin*, 20(9): 462-470.
43. Gubbins P.; Anaissie, E. (2009). Antifungal therapy. In: Anaissie, E.; McGinnis, M.; Pfaller, M. Clinical Mycology. Chapter. 7. Ed. (pp. 161-195). Philadelphia: Churchill Livingstone.
44. Gadea, I.; Cuenca, M. (2004). Guidelines for fungal diagnoses and antifungal sensitivity studies. *Enferm Infect Microbiol Clin*, 22(1): 32-39.

45. Gadea, I.; Cuenca, M.; Martín E.; Pemán, J.; Pontón J.; Rodríguez, J. (2007). Microbiological procedures for diagnosing mycoses and for antifungal susceptibility testing. *Enferm Infecc Microbiol Clin*, 25(5): 336–340.
46. Carrillo, A.; Abarca, L.; Quindós, G. (2001). Métodos colorimétricos para la determinación de la sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos. *Rev Iberoam Micol*, 18: 150-155.
47. Martín, E.; Cantón, E.; Espinel, A. (2007). Otros métodos para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos. En : Pemán, J.; Martín, E.; Rubio, M. *Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica*. (2ª ed). Cap. 16. Ed. (pp: 1-9). Bilbao: Revista Iberoamericana de Micología.
48. Davey, K.; Holmes, A.; Johnson, E.; Szekely, A.; Warnock, D. (1998). Comparative Evaluation of FUNGITEST and Broth Microdilution Methods for Antifungal Drug Susceptibility Testing of *Candida Species* and *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Microbiol*, 36(4): 926-930.
49. García, P.; Noval, J.; García, A.; Marín, P.; Puerto, J.; Sepúlveda, A. (2002). Susceptibility to antifungal agents of *Cryptococcus* species of clinical interest. *Med Clin (Barc)*, 119(6): 211-213.
50. García, L.; García, P.; Martos, J.; Aznar, P.; Marín, P.; Rodríguez, M. (2012). Evaluation of the Sensititre Yeast One microdilution method for susceptibility testing of *Candida* species to anidulafungin, caspofungin, and micafungin. *Rev Esp Quimioter*, 25(4): 256-260.
51. Zapata, F.; Cardona, N. (2012). Lo que debemos saber sobre los métodos de sensibilidad a los antifúngicos. *Rev CES Med*, 26(1): 71-83.
52. Viudes, A.; Peman, J.; Canton, E.; Ubeda, P. (2002). Candidemia in tertiary hospital: epidemiology, treatment, clinical outcome and risk factors for death. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 21: 767-74.
53. MacDonald, L.; Baker, C.; Chenoweth, C. (1998). Risk factors for candidemia in a children's hospital. *Clin Infect Dis*, 26: 642-5.
54. Cigdem, K.; Riza, D.; Baris, Otlu.; Elif, A.; Hande, G.; Zeynep, C. (2008). Species distribution, antifungal susceptibility and clonal relatedness of

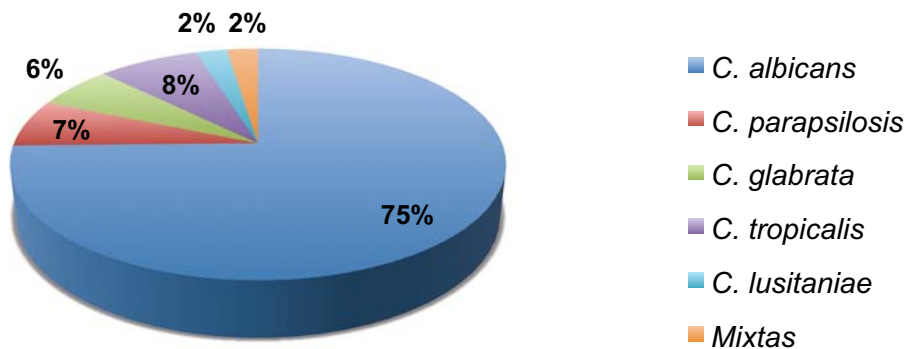
- Candida isolates from patients in neonatal and pediatric intensive care units at a medical center in Turkey. *New Microbiologica*, 31: 401-408.
55. Zaoutis, T.; Walsh, T. (2007). Antifungal therapy for neonatal candidiasis. *Curr Opin Infect Dis*, 20: 592-597.
56. Estrada, D.; Dávalos, A.; Flores, L.; Mendoza, R.; Sánchez, L. (2011). Comparación entre métodos convencionales, ChromAgar Candida® y el método de la PCR para la identificación de especies de Candida en aislamientos clínicos. *Rev Iberoam Micol*, 28(1): 36-42.
57. Monografía API® 20C AUX (bioMérieux® SA).
58. Monografía ID 32C® (bioMérieux® SA).
59. Monografía Rapid Yeast Identification Panel MicroScan® (Dade Behring).

12. ANEXOS.

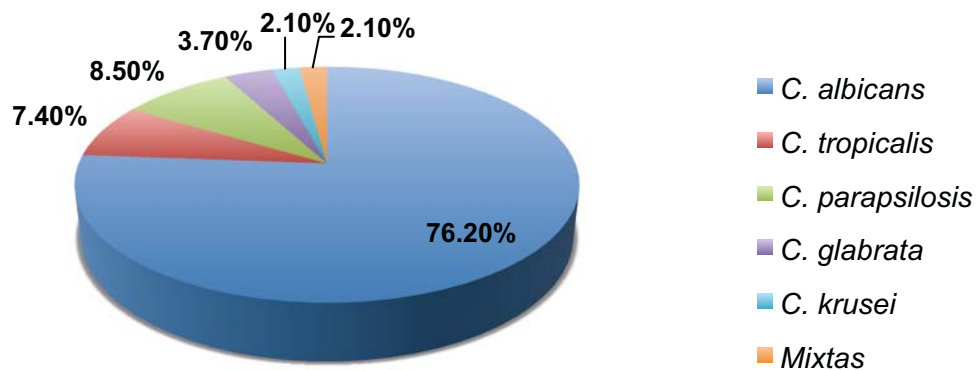
Distribución de *Candida albicans* y *Candida no albicans* en el periodo de estudio



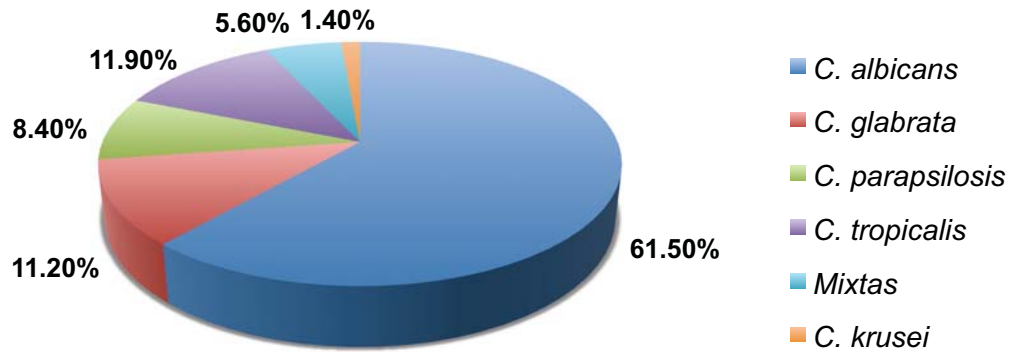
Distribución de especies aisladas en el año 2008



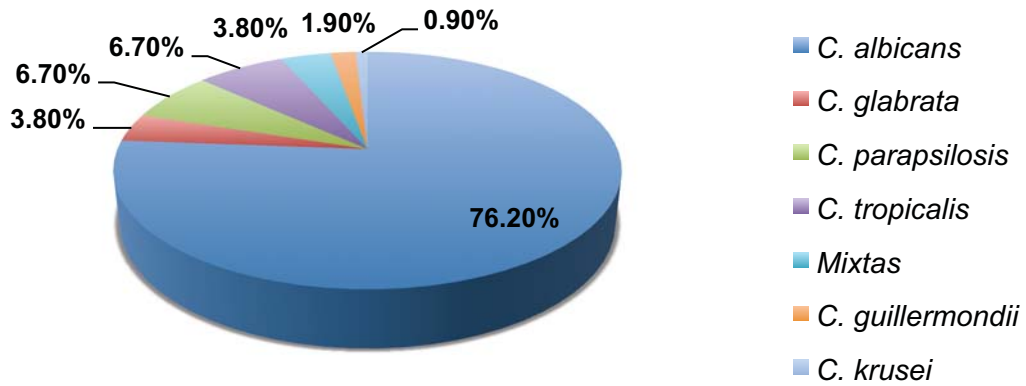
Distribución de especies aisladas en el año 2009



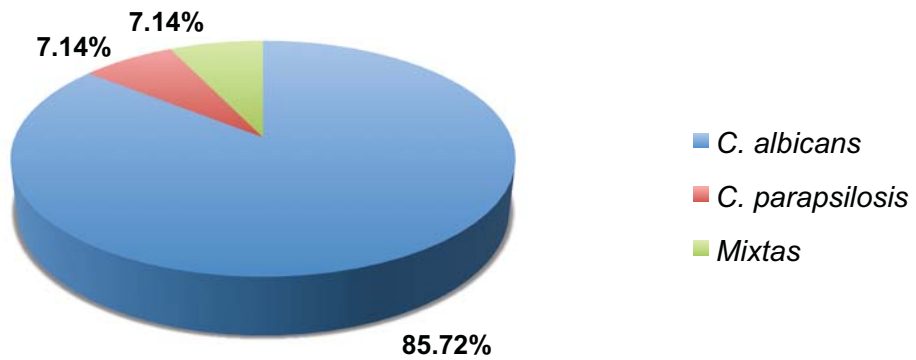
Distribución de especies aisladas en el año 2010

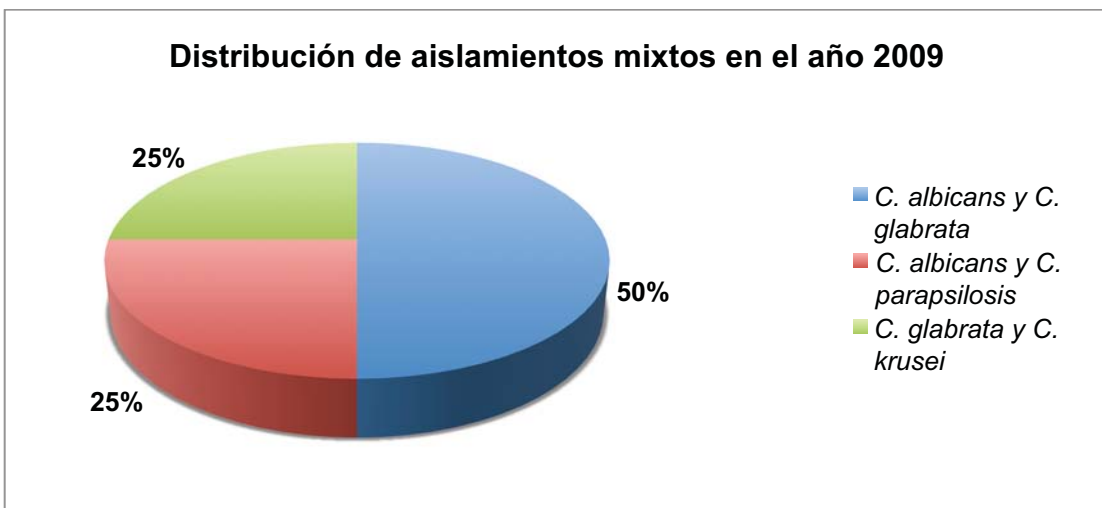
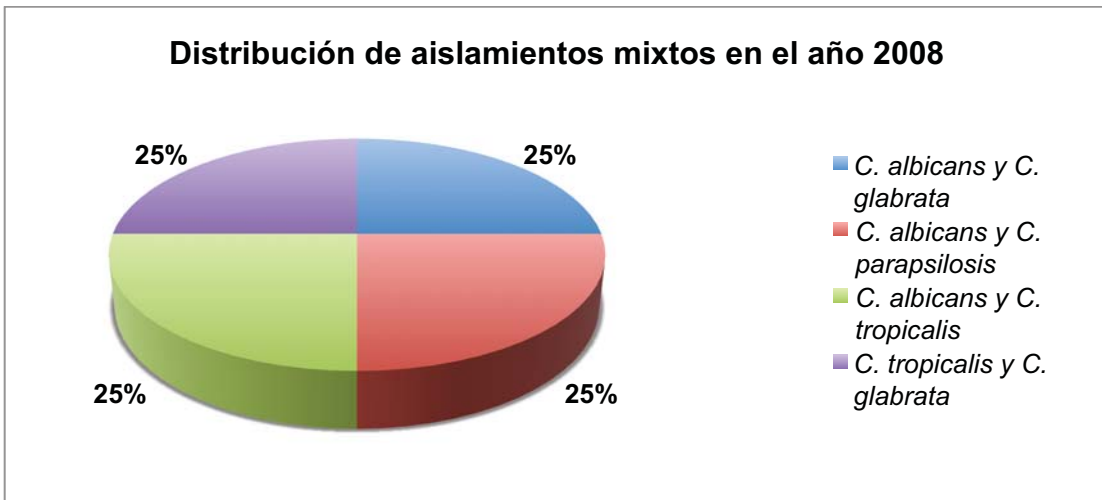
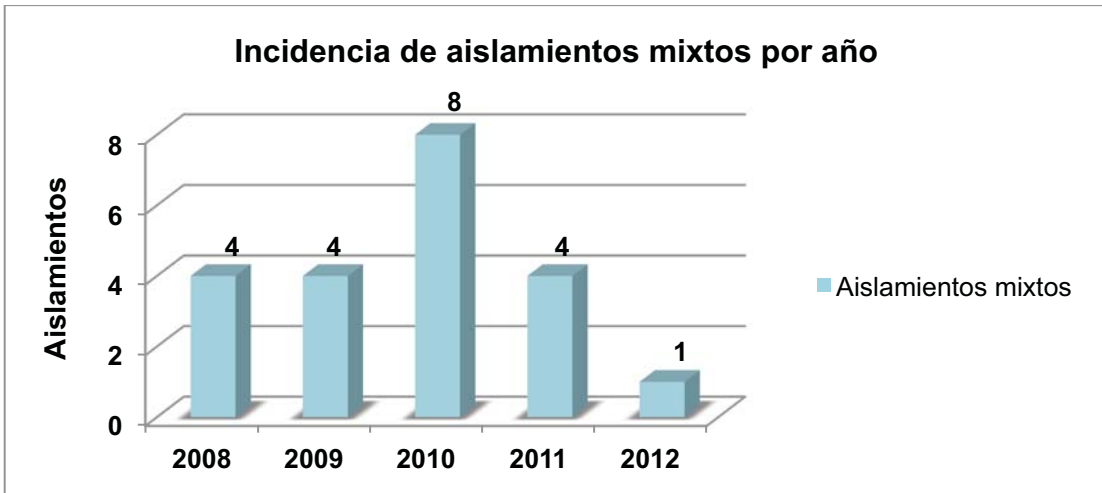


Distribución de especies aisladas en el año 2011

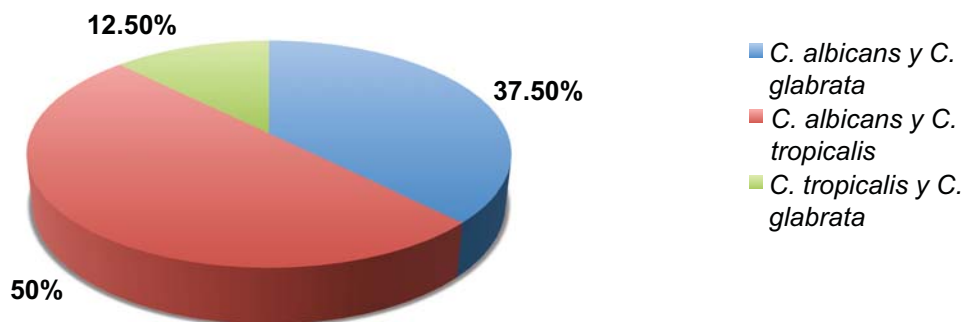


Distribución de especies aisladas en el año 2012

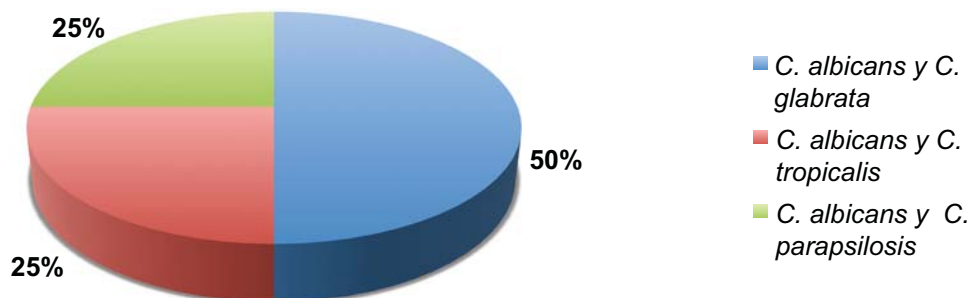




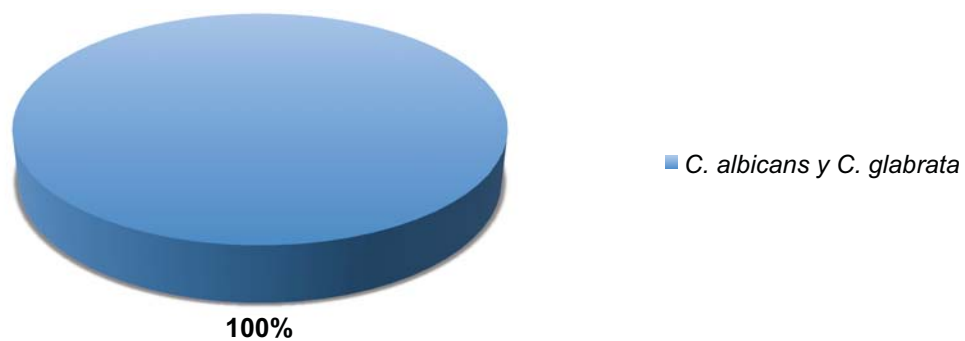
Distribución de aislamientos mixtos en el año 2010



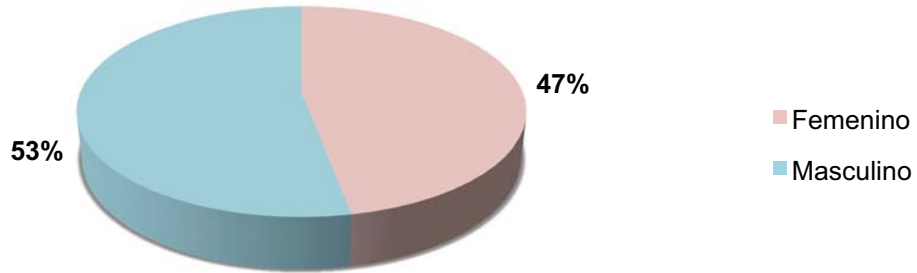
Distribución de aislamientos mixtos en el año 2011



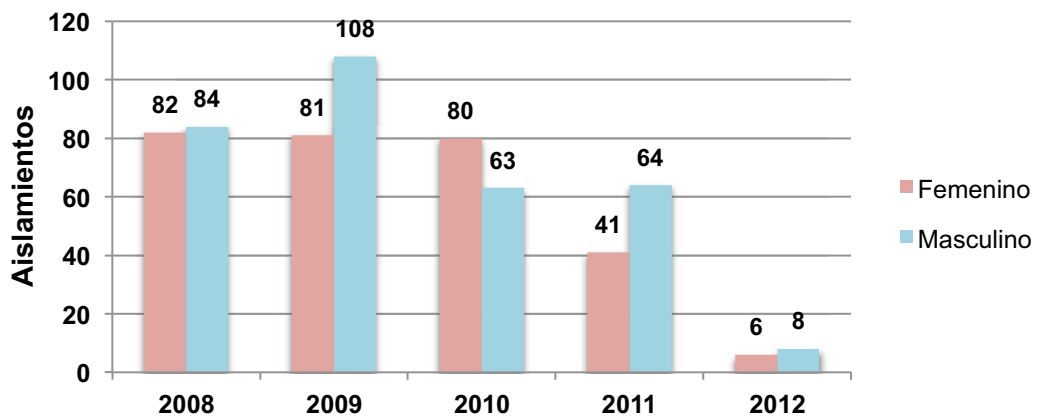
Distribución de aislamientos mixtos en el año 2012



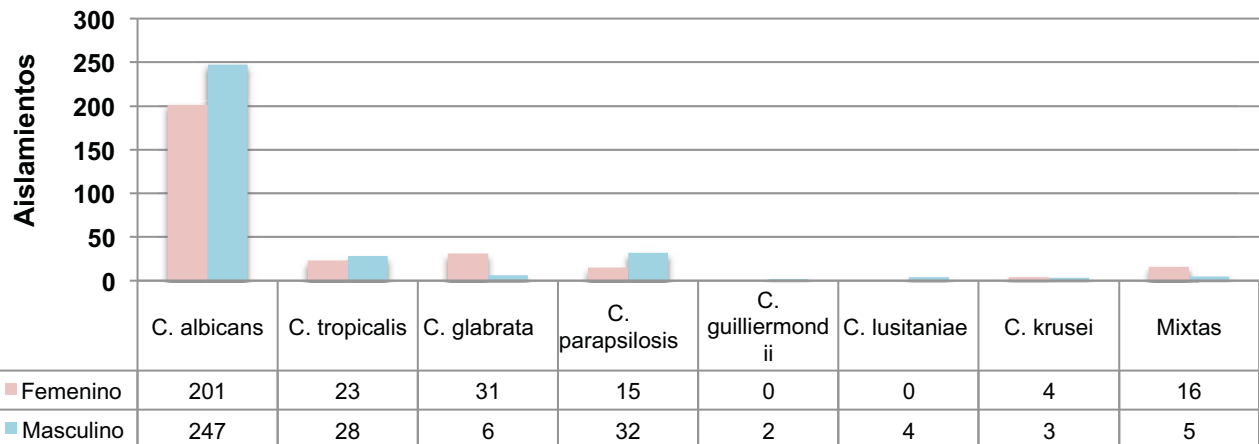
Distribución de *Candida spp* aisladas por género en el periodo de estudio



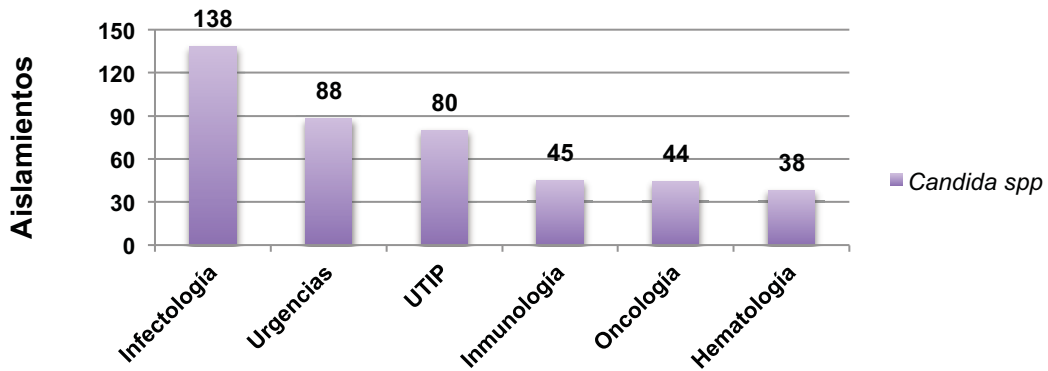
Incidencia de *Candida spp* aisladas por género por año



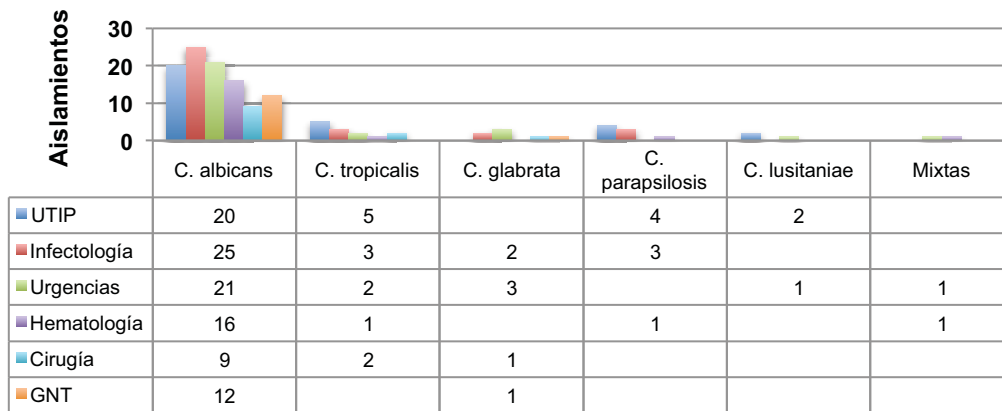
Incidencia de especies aisladas por género en el periodo de estudio



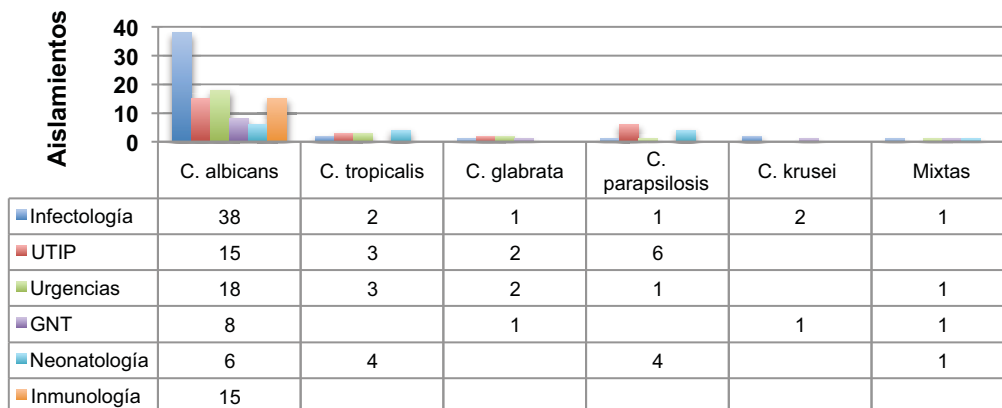
Servicios médicos con mayor incidencia de *Candida spp* en el periodo de estudio



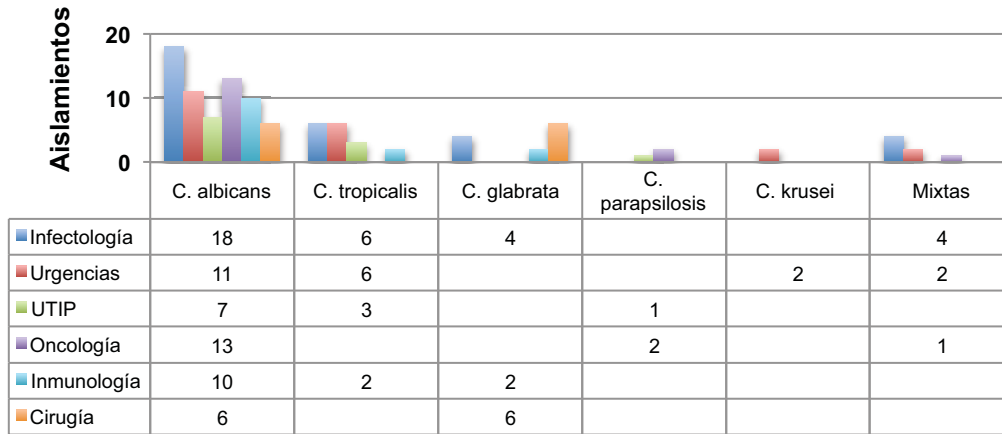
Distribución de especies aisladas en los servicios médicos con mayor incidencia en el año 2008



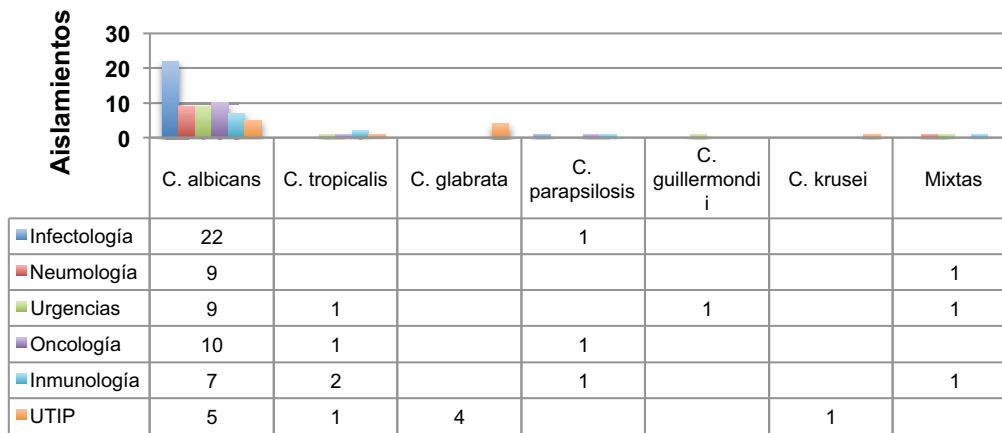
Distribución de especies aisladas en los servicios médicos con mayor incidencia en el año 2009



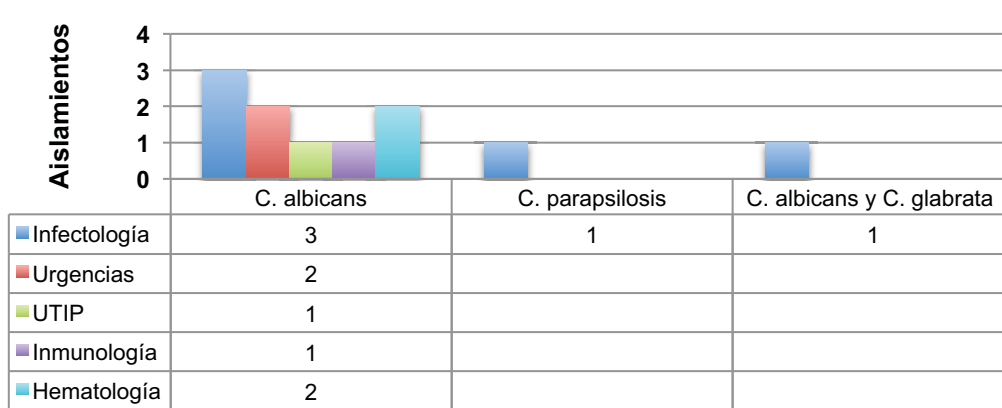
Distribución de especies aisladas en los servicios médicos con mayor incidencia en el año 2010



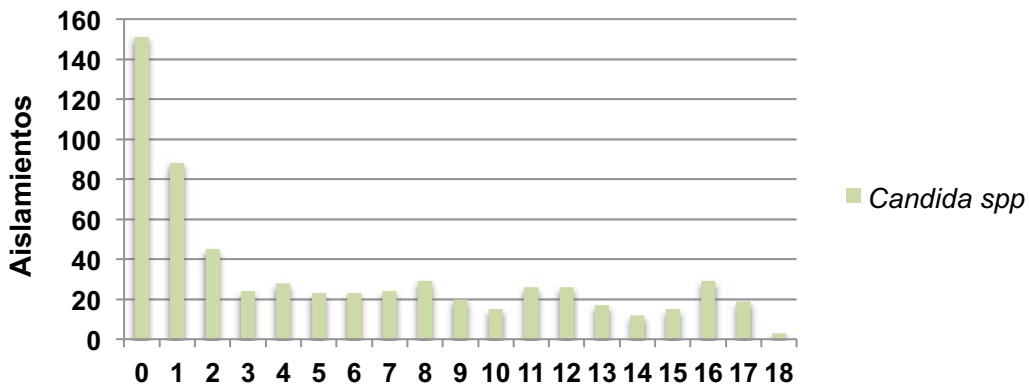
Distribución de especies aisladas en los servicios médicos con mayor incidencia en el año 2011



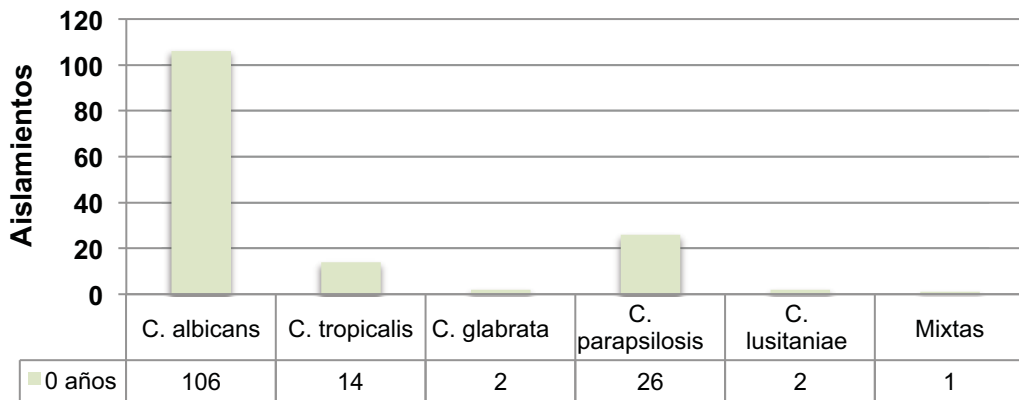
Distribución de especies aisladas en los servicios médicos con mayor incidencia en el año 2012



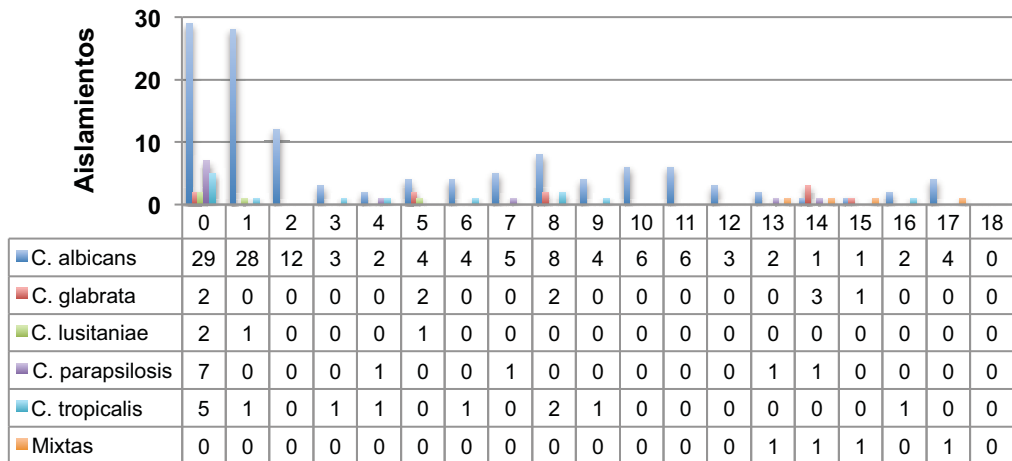
Incidencia de *Candida spp* aisladas por edad durante el periodo de estudio



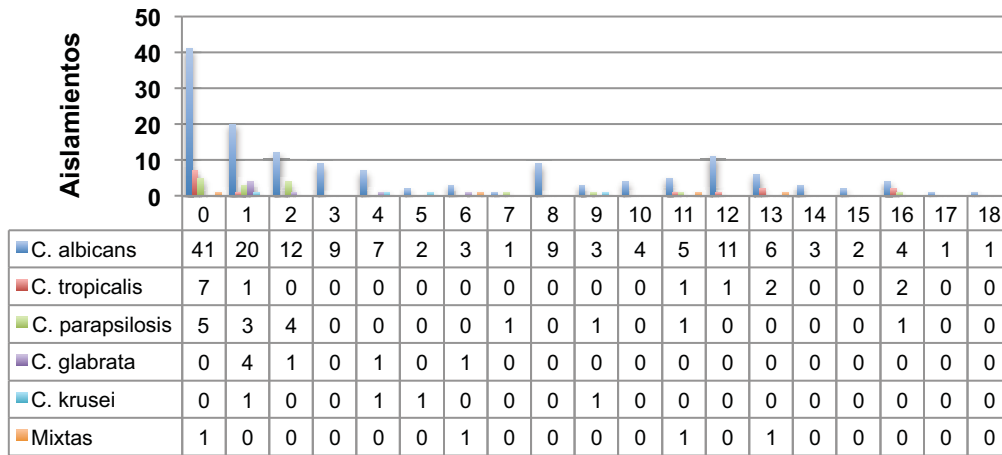
Distribución de especies aisladas en pacientes menores de 1 año en el periodo de estudio



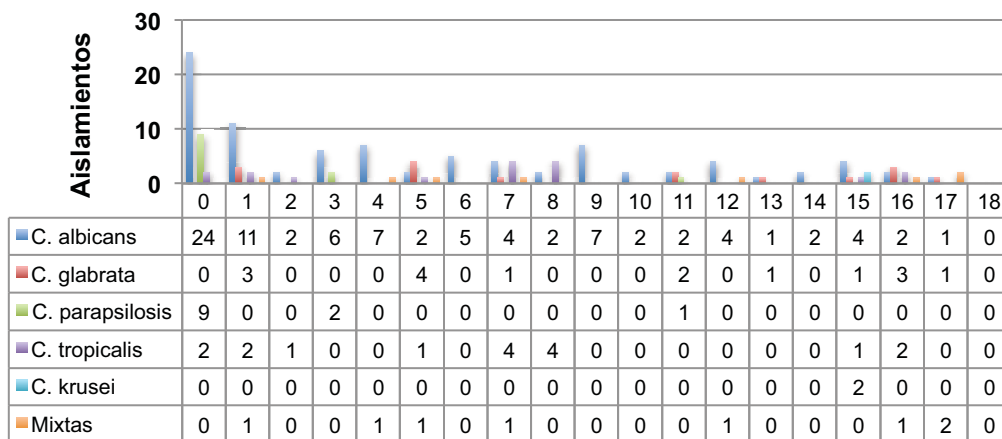
Incidencia de especies aisladas por edad en 2008



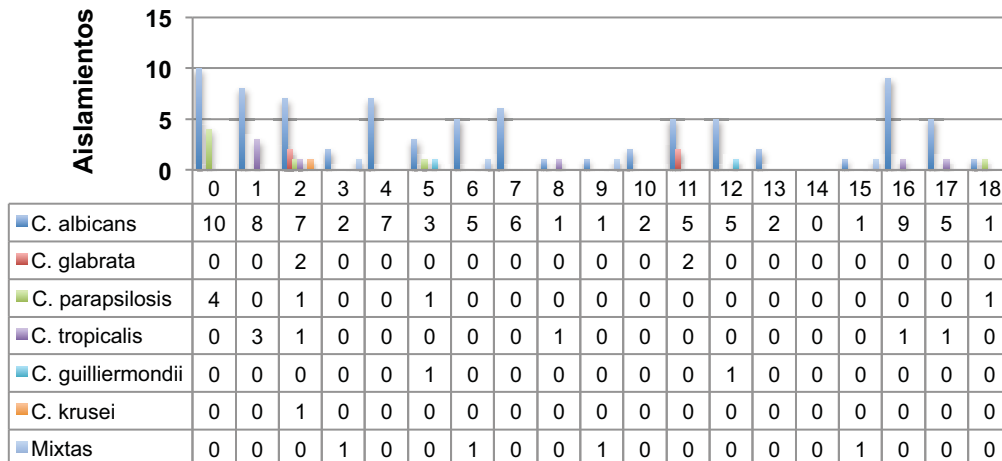
Incidencia de especies aisladas por edad en 2009



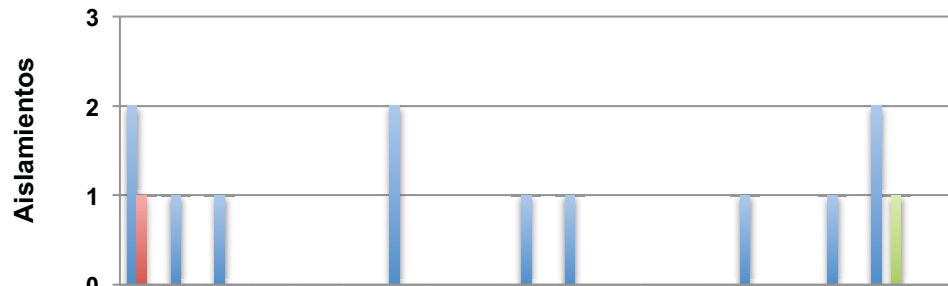
Incidencia de especies aisladas por edad en 2010



Incidencia de especies aisladas por edad en 2011



Incidencia de especies aisladas por edad en 2012



	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
■ C. albicans	2	1	1	0	0	0	2	0	0	1	1	0	0	0	1	0	1	2	0
■ C. parapsilosis	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
■ Mixtas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0