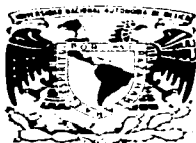


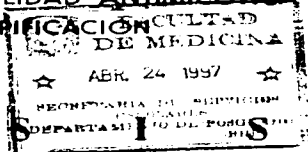
11219^{ri}



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE PEDIATRIA
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

ESTUDIO MULTICENTRICO DE CEPAS DE
Candida sp: SENSIBILIDAD ANTIMICOTICA
Y SEROTIFICACION



T E S I S
QUE PARA OBTENER LA ESPECIALIZACION EN
INFECTOLOGIA Y ECOLOGIA MEDICA
P R E S E N T A :
MARIA DEL ROCIO ESPINOZA CASAS



IMSS

TESIS CON
VALIA DE ORIGEN

TUTOR: DR. HUMBERTO DIAZ PONCE
COTUTOR: DR. FORTINO SOLORZANO SANTOYO
MEXICO, D. F. 24 de ABRIL de 1997
[Handwritten signatures and marks]



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.

... a todos aquéllos que de alguna manera han contribuido positivamente en mi profesión.

CONTENIDO

Resumen	1
Antecedentes	3
Objetivos	6
Material y Métodos	7
Resultados	13
Tablas	16
Discusión	20
Conclusiones	24
Bibliografía	25

RESUMEN

INTRODUCCION: Las infecciones por *Candida* sp están en incremento. Los quimioterápicos, antibióticos, esteroides y la infección por el virus de inmunodeficiencia adquirida predisponen a infecciones micóticas invasivas. Existen dos serotipos de *Candida albicans*: A y B. El serotipo B ha desplazado al A, principalmente en pacientes inmunocomprometidos.

OBJETIVOS: 1. Identificar la especie de *Candida* más frecuentemente aislada en cuatro diferentes hospitales. 2. Conocer los patrones de sensibilidad a anfotericina B, ketoconazol, itraconazol y fluconazol. 3. Evaluar los patrones de sensibilidad a azoles y anfotericina B de acuerdo al serotipo de *Candida albicans*.

MATERIAL Y METODOS: Se incluyeron cepas de *Candida* sp de cuatro diferentes hospitales. Para la identificación de especie de *Candida* se efectuó la prueba de emisión de tubo germinativo y por el sistema ID 32 C. La serotipificación se realizó por inmunofluorescencia indirecta. Las pruebas de sensibilidad a anfotericina B, ketoconazol, itraconazol y fluconazol se realizaron por el método de microdilución en placa propuesto por Rinaldi.

RESULTADOS: Se estudiaron 214 cepas. Se identificaron nueve especies de *Candida*. *Candida albicans* predominó en tres de los hospitales participantes. De 149 *C. albicans*, 47% fueron serotipo A y 53% serotipo B. No se encontraron cepas resistentes a anfotericina B. Del total de cepas, la resistencia fué de 39% para itraconazol, 25% para fluconazol y 21% para ketoconazol. No encontramos asociación entre resistencia a los cuatro antimicóticos y el serotipo de *C. albicans* en los cuatro hospitales.

DISCUSION: *Candida albicans* fué la especie que se aisló con mayor frecuencia. El serotipo B fué el que se identificó con mayor frecuencia en nuestro medio. *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. glabrata* fueron las especies de *Candida* no *albicans* que se aislaron con mayor frecuencia. En los resultados globales de sensibilidad encontramos que la resistencia a azoles se ha incrementado en el HP CMN SXXI; sin embargo, estos resultados no podemos extrapolarlos a los otros hospitales por carecer de antecedentes sobre la sensibilidad de cepas de *Candida* sp.

ANTECEDENTES

Las levaduras del género *Candida* son patógenos oportunistas. El habitat de algunas de ellas es el tubo digestivo y pliegues cutáneos. En hospederos inmunocomprometidos puede causar enfermedad en diferentes sitios anatómicos. El término candidiasis describe una enfermedad primaria o secundaria ocasionada por levaduras del género *Candida* ¹⁻³.

Las especies que han sido implicadas en candidiasis son en orden de frecuencia: *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, *Candida glabrata* (*Torulopsis glabrata*), *Candida stellatoidea*, *Candida kefyr* (*Candida pseudotropicalis*) y *Candida lusitanae*. La especie *Candida albicans* constituye el 50 a 70% de las cepas cultivadas a partir de muestras clínicas de hospederos sanos o inmunocomprometidos ^{4,5}.

Los factores de riesgo para sufrir candidiasis en distintas variedades clínicas incluyen el uso de quimioterápicos, antibióticos y esteroides, alteraciones en los mecanismos de defensa del hospedero como consecuencia de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana, además de otros factores tales como neutropenia, radiación, uso de catéteres intravenosos, diálisis peritoneal, hemodiálisis, hiperalimentación, cirugía abdominal y cardíaca ⁶⁻¹⁰.

El Sistema Nacional de Vigilancia de Infecciones Nosocomiales de Estados Unidos de América reportó entre 1980 y 1989 un aumento en infecciones sistémicas por *Candida* sp. Fraser y colaboradores describieron un

Incremento de veinte veces en la incidencia de candidemia en el periodo de 1988 a 1989 comparado con el periodo de 1976 a 1979 ^{11, 12}.

En Estados Unidos de América, *Candida albicans* causó el 7.7% de todas las infecciones sistémicas entre 1985 y 1988 ¹³. En el Hospital Infantil de México en 1990 y 1991, *Candida* sp. ocupó el segundo y primer lugar de la lista de gérmenes aislados a partir de hemocultivos, respectivamente ¹⁴.

Por otra parte, Hasenclever y Michell clasificaron a *Candida albicans*, con base en los diferentes antígenos de superficie en dos serotipos: A y B. Un tercer serotipo fué descrito por Fukasawa y colaboradores, sin embargo es poco frecuente encontrarlo (menos de 1%) ^{15 - 17}.

Dos estudios realizados en Estados Unidos de Norteamérica, uno en la década de los 60's reportó mayor prevalencia de *C. albicans* serotipo A (65%) y el otro en 1982 reportó prevalencia del 50% para cada serotipo ¹⁸.

En Europa en 1975 así como en 1977 se encontró una prevalencia de *C. albicans* serotipo A en un 90 a 96% de las cepas estudiadas. En Canadá en 1979, la prevalencia de *C. albicans* serotipo A fué del 74.3% ^{19, 20}.

En individuos inmunocompetentes es igualmente probable portar cepas serotipo A y B en cavidad oral; sin embargo, recientemente se ha documentado que en pacientes inmunocomprometidos, incluyendo pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), existe la probabilidad dos veces mayor de estar infectados por *C. albicans* serotipo B. Este fenómeno en que predomina serotipo B en pacientes inmunocomprometidos ha sido observado en dos estudios que han incluido el análisis de 128 cepas aisladas de cavidad oral y 102 de hemocultivos ^{21, 22}. En el estudio realizado con las cepas de hemocultivos, los resultados sugieren que la prevalencia en los serotipos es diferente de acuerdo al área

geográfica, ya que el serotipo B se encontró más frecuentemente en Seattle que en Hong Kong. Así mismo se encontró que el serotipo B causó 5 veces más enfermedad invasiva en pacientes inmunocomprometidos. Por lo anterior se ha propuesto que el aumento en la prevalencia de infecciones por *Candida albicans* serotipo B pueda ser atribuible a factores del hospedero, del microorganismo, del área geográfica o a la combinación de estos ²¹.

Estudios recientes investigando el serotipo prevalente en diferentes países, indican que el serotipo B está en incremento, sobretodo en pacientes con SIDA ^{19, 21}.

En el Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional, Siglo XXI, Gutiérrez y colaboradores serotipificaron por inmunofluorescencia indirecta 60 cepas de *Candida albicans* provenientes de pacientes con sepsis, neumonía, infección de vías urinarias, candidiasis oral, peritonitis secundaria y vulvovaginitis, sus resultados mostraron que 68% correspondieron al serotipo A y 32% al serotipo B, no encontrando diferencias en cuanto a los patrones de resistencia y serotipo ²³.

Por otra parte, han emergido cepas de *Candida albicans* resistentes a los azoles y triazoles, sin que hasta el momento se hayan encontrado cepas de esta especie resistentes a anfotericina B ²⁴. En cambio, las cepas de *Candida* no *albicans* especialmente *Candida krusei* y *Candida glabrata* (*Torulopsis glabrata*) se han reportado con resistencia múltiple, incluyendo anfotericina B. No existe algún factor único que determine la resistencia de estas especies, sin embargo se sugiere que podrían influir la exposición previa a antimicóticos y quimioterapia ²⁵⁻²⁹.

OBJETIVOS

1. Identificar la especie de *Candida* más frecuentemente aislada en cuatro diferentes hospitales.
2. Conocer los patrones de sensibilidad a anfotericina B, ketoconazol, itraconazol y fluconazol de *Candida* sp.
3. Evaluar los patrones de sensibilidad a azoles y anfotericina B de acuerdo al serotipo de *Candida albicans*.

MATERIAL Y METODOS

Se estudiaron cepas de *Candida* sp. obtenidas de cultivos de pacientes hospitalizados del Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional, Siglo XXI (HP CMN SXXI), Hospital de Oncología, CMN, SXXI (HO CMN SXXI), Instituto Nacional de Cancerología (INCan) e Instituto Nacional de Perinatología (INPer). Las cepas del HP CMN SXXI, HO CMN SXXI e INCan se obtuvieron en forma prospectiva, conforme se fueron aislando a partir de Junio de 1996 a Enero de 1997. Las cepas del INPer se obtuvieron de un cepario de un brote epidémico que sucedió en 1993. De cada cepa se recabó el origen del aislamiento y en algunos casos las características clínicas de los pacientes; la fuente de información fué el expediente clínico.

La identificación genérica fué realizada en los laboratorios de microbiología clínica de cada uno de los hospitales participantes. La identificación completa hasta especie, serotipificación y pruebas de sensibilidad se realizaron en el laboratorio de microbiología clínica del HP CMN SXXI.

Para la identificación presuntiva de *Candida albicans* se realizó la prueba de emisión de tubo germinativo ^{1, 5}. La identificación de especie se realizó por medio del sistema ID 32 C (Biomériux, Marcy-l' Etoile, France), siguiendo las instrucciones del fabricante.

La serotipificación de *Candida albicans* se llevó a cabo por inmunofluorescencia indirecta (IFA) ^{13, 23}.

Las pruebas de sensibilidad a anfotericina B, fluconazol, itraconazol y ketoconazol se realizaron por el método de microdilución en placa ^{23, 29, 30}.

PROCEDIMIENTOS

CARACTERIZACIÓN DE LAS CEPAS DE *Candida* sp.

Cada una de las cepas se aisló en agar sabouraud y del cultivo de 24 horas se efectuó la prueba de emisión de tubo germinativo, la identificación hasta especie de *Candida* por el sistema ID 32 C y la serotipificación por inmunofluorescencia indirecta. Posteriormente se realizó un subcultivo, del cuál se realizaron las pruebas de sensibilidad.

SEROTIPIFICACION DE *Candida albicans*

La serotipificación se realizó mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFA) ^{13, 23}.

Se emplearon como controles dos cepas tipo del cepario del Instituto Pasteur. IPO92: serotipo A y la IPO93: serotipo B (proporcionadas por la Dra. Toriello del Laboratorio de Micología Médica, de la Universidad Nacional Autónoma de México).

Todas las cepas de *Candida albicans*, se cultivaron en medio de Sabouraud, durante 24 horas a 37°C, se cosecharon con PBS 0.1 M (pH 7) y posteriormente se elaboró una suspensión ajustada al tubo 0.5 de McFarland con cada una de las dos cepas. Para darles muerte se utilizó timerozal al 0.2% y se incubaron 24 horas a 37°C en agitación continua. Una vez muertas se realizaron frotos de cada una de ellas, los cuáles se fijaron con calor.

Los anticuerpos utilizados en la técnica de IFA son policlonales. El primero se obtuvo de conejos de Nueva Zelanda inmunizados con levaduras de

Candida albicans serotipo B (cepa CBS 311), el suero fué adsorbido por levaduras de *Candida albicans* serotipo A y posteriormente dializado en PBS 0.1 M pH 7, filtrado a través de una membrana de milipore (Costar, filter II 0.45 μ m). El segundo anticuerpo es de suero de cabra contra inmunoglobulina (Ig) de conejo, conjugado con fluoresceína.

Las laminillas con los frotos de cada una de las cepas se incubaron con 7 μ l del primer anticuerpo diluido 1:2 en PBS 0.1 M pH 7, durante 45 minutos a 37 °C en una cámara húmeda. Posteriormente se realizaron dos lavados de diez minutos cada uno, mediante inmersión de las laminillas en PBS, enseguida fueron lavadas en una ocasión en agua estéril. A continuación se agregó a cada uno de los frotos 7 μ l del segundo anticuerpo diluido 1:20 en PBS, se incubaron y lavaron de la misma manera que la etapa anterior. Una vez que las laminillas se secaron, se les agregó solución de montaje para inmunofluorescencia (AFT systems) y se les colocó un cubreobjetos a cada una de ellas. Para la lectura de las laminillas se empleó un microscopio de inmunofluorescencia (Carl/Zeiiss, West Germany). Se consideró serotipo A cuando la fluorescencia fué negativa y serotipo B cuando la fluorescencia fué positiva.

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A ANTIMICOTICOS

El medio de cultivo utilizado fué RPMI 1640 (con L-glutamina sin bicarbonato de sodio, GIBCO BRL Cat no. 11345 - 022, Lote no. 82N7064 y GIBCO BRL catalogo no. 12511 - 028, Lote no. 15P8542). El pH del medio se ajustó a 7 con MOPS (ácido morfolinopropanosulfónico, 0.165 M). Las drogas utilizadas fueron anfotericina B, fluconazol, itraconazol y

ketoconazol. De cada una de las drogas se preparó una solución madre "stock":

-Anfotericina B se diluyó en dimetilsulfóxido al 100% a una concentración de 16,000 µg/ml.

-Fluconazol se diluyó en agua bidestillada estéril a una concentración de 16,000 µg/ml.

-Itraconazol se diluyó en dimetilsulfóxido al 100% a una concentración de 5,000 µg/ml.

-Ketoconazol se diluyó en dimetilsulfóxido el 100% a una concentración de 5,000 µg/ml.

El stock de soluciones con las drogas se prepararon soluciones 10X para cada una de las concentraciones a probar, las cuáles variaron de 0.03 µg/ml a 16 µg/ml para anfotericina B y ketoconazol, de 0.25 µg/ml a 128 µg/ml para fluconazol y de 0.625 µg/ml a 32 µg/ml para itraconazol.

La dilución de las drogas se realizó con RPMI 1640 con L-glutamina sin bicarbonato de sodio (Gibco) y se ajustó a pH 7.0 con amortiguador MOPS. Se utilizaron placas de poliestireno con 96 pozos de fondo plano (Linbro/Titertek). En cada columna de pozos se colocaron con la pipeta multicanales (Titertek) 100 µl de una solución 2X de la concentración final deseada para cada droga, en forma seriada de la columna uno a la diez, partiendo de la concentración más baja a la más alta. Los pozos de las últimas dos columnas solo contienen medio de cultivo para control de crecimiento y esterilidad. Las microplacas se mantuvieron en congelación a -70°C hasta su uso.

El valor de corte para considerar sensibilidad o resistencia ^{31, 32} , fué:

- Sensibilidad a anfotericina B <= 1 µg/ml
- Sensibilidad a ketoconazol <= 8 µg/ml
- Sensibilidad a fluconazol <= 32 µg/ml
- Sensibilidad a itraconazol <= 8 µg/ml

PREPARACION DEL INOCULO

Cada una de las cepas se cultivó en agar Sabouraud 48 horas a 37°C, posteriormente para asegurar la pureza del cultivo se realizaron subcultivos de 24 horas, a partir de los cuáles se eligieron cinco colonias con diámetro mayor de 1 mm, con las cuáles se preparó una suspensión en solución salina estéril al 0.9%. La suspensión de cada una de las cepas se ajustó a una turbidez similar al tubo 0.5 de McFarland (0.05 ml de cloruro de bario al 1% en 9.95 ml de ácido sulfúrico al 1%) ¹³. De esta suspensión inicial se realizó una dilución de 1:50, seguido de una dilución 1:20 en RPMI 1640. Se colocaron 100 µl de la dilución final del inóculo, en los pozos correspondientes a las columnas 1 a la 11. Cada cepa se probó por duplicado.

Una vez inoculadas se incubaron a 37°C durante 48 hrs. Las microplacas con azoles se agitaron durante 5 minutos antes de la lectura. La lectura de las mismas se llevó a cabo visualmente utilizando un espejo para lectura de prueba de hemaglutinación (Microtiter, Cooke Engineering Company) y las concentraciones mínimas inhibitorias para los azoles se consideró la ligera turbidez, comparada en relación al control sin antimicóticos.

En el caso de anfotericina B, a diferencia de lo anterior, las microplacas no se agitaron antes de su lectura y la concentración mínima inhibitoria se consideró hasta el pozo en que no hubiera desarrollo de colonias ³⁰.

ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados se expresan en frecuencias y porcentajes. Para la asociación de serotipo con sensibilidad a los diferentes antimicóticos se realizó a través de la χ^2 y prueba exacta de Fisher. Se dió como significancia estadística resultados con $p < 0.05$.

RESULTADOS

Se incluyeron para el estudio 214 levaduras. Ochenta y cuatro cepas fueron proporcionadas por el INCan, cincuenta y dos por el HO CMN SXXI, cuarenta y tres por el INPer y treinta y cinco por el HP CMN SXXI.

Candida sp se aisló en 40 hemocultivos, 45 urocultivos, 39 muestras de expectoración y 21 muestras de lavado broncoalveolar; para más detalles con respecto al origen de las muestras clínicas a partir de las cuáles se aislaron las levaduras ver tabla 1.

Se formaron dos grupos del género *Candida*. Se identificaron nueve especies de *Candida*, 149 *C. albicans* y 65 *Candida* no *albicans*. A excepción de las cepas provenientes del INPer, *C. albicans* predominó en los otros tres hospitales participantes; en el INPer *C. parapsilopsis* fué la especie que se identificó en mayor número. Las especies de *Candida* no *albicans* que ocuparon los lugares subsecuentes en frecuencia con respecto a *C. albicans* fueron *C. parapsilopsis*, *C. tropicalis* y *C. glabrata* (ver tabla 2). De las 149 cepas de *Candida albicans*, 70 fueron serotipo A (47%) y 79 serotipo B (53%). El predominio de *C. albicans* serotipo B se encontró en el INCan y el HP CMN SXXI; en las cepas del HO CMN SXXI se encontró que la frecuencia de los serotipos A y B es casi similar; en el INPer es franco el predominio de serotipo A (ver tabla 3).

No se encontraron cepas con resistencia para anfotericina B. Del total de las 214 cepas estudiadas, la resistencia fué del 39% para itraconazol, 25% para fluconazol y 21% para ketoconazol.

De 149 *Candida albicans* el 28% resultaron resistentes a ketoconazol, el 30% a fluconazol y 40% a itraconazol. Los resultados globales de sensibilidad por serotipo de *C. albicans* se muestran en detalle en la tabla 4; observando un franco predominio de resistencia para itraconazol independientemente del serotipo y en segundo lugar para fluconazol. De acuerdo al serotipo de *Candida albicans*, en el serotipo A, 33% fueron resistentes a ketoconazol, 53% a itraconazol y 33% fluconazol. Para el serotipo B la resistencia fué de 23% a ketoconazol, 42% a itraconazol y 27% a fluconazol. No hubo diferencias significativas en cuanto a resistencia y serotipo para cada uno de los antimicóticos (tabla 4).

De las *Candida no albicans*, se hizo el análisis únicamente de aquellas especies que hubo más de 10 cepas aisladas. De 23 *C. parapsilosis*, tres fueron resistentes a fluconazol y cuatro a itraconazol. De quince *C. tropicalis* una fué resistente a ketoconazol, tres a fluconazol y cuatro a itraconazol. De once cepas de *C. glabrata*, una fué resistente a ketoconazol y dos a itraconazol.

Los resultados del análisis de resistencia de *C. albicans* de acuerdo a serotipo y hospital se muestran en las tablas 5 y 6; no encontramos diferencias significativas en cuanto a resistencia y serotipo para las cepas de cada hospital. Es de hacer notar que en el INPer se observan los mayores porcentajes de resistencia para fluconazol independientemente de los serotipos de *C. albicans*, aunque el número de cepas es pequeño. En el HO CMN SXXI la resistencia fué mayor para itraconazol para ambos serotipos y en comparación a otros hospitales no se encontraron cepas de *Candida albicans* serotipo A resistentes a fluconazol.

El análisis de cepas de *C. albicans* con resistencia cruzada para azoles y triazoles mostró que en el INCan se encontraron cepas con resistencia cruzada a los tres azoles probados. En el HO CMN SXXI la resistencia cruzada encontrada fué para ketoconazol e itraconazol en la mayoría de las cepas. En el HP CMN SXXI se encontraron cepas con resistencia cruzada a los tres azoles. Todos estos resultados estuvieron similarmente distribuidos para ambos serotipos (tabla 7).

En la tabla 8 se presentan los resultados de resistencia para las *Candida* no *albicans*, habiéndose incluido únicamente aquellas especies con más de diez cepas. *C. tropicalis* tuvo resistencia para todos los azoles probados, así como los mayores porcentajes de resistencia para fluconazol e itraconazol. *C. parapsilosis* mostró resistencia solo para los triazoles. *C. glabrata* mostró resistencia para ketoconazol e itraconazol.

La resistencia cruzada observada entre las cepas *Candida* no *albicans*, es como sigue: de siete *C. parapsilosis* resistentes, dos mostraron resistencia para fluconazol e itraconazol; de ocho cepas resistentes de *C. tropicalis*, tres mostraron resistencia para fluconazol e itraconazol; y de tres cepas de *C. glabrata* resistentes, una fué resistente para ketoconazol e itraconazol.

TABLA 1
FUENTES A PARTIR DE LAS CUALES SE AISLO *Candida* sp

ORIGEN	NUMERO
Urocultivo	45
Hemocultivo	40
Expectoración	39
Raspado oral	32
Lavado broncoalveolar	21
Punta de catéter venoso	10
Herida quirúrgica	10
Líquido cefalorraquídeo	5
Otras secreciones	5
Líquido peritoneal	4
Punta sonda vesical	3
TOTAL	214

TABLA 2
DISTRIBUCION DE LOS DIFERENTES GENEROS Y ESPECIES DE LEVADURAS CORRESPONDIENTES A CADA HOSPITAL.

LEVADURAS	INCAn	HO CMN SXXI	INPer	HP CMN SXXI
<i>C. albicans</i>	71	34	11	33
<i>C. parapsilosis</i>	1	5	16	1
<i>C. tropicalis</i>	4	5	6	0
<i>C. glabrata</i>	7	1	3	0
<i>C. guilliermondii</i>	0	4	5	0
<i>C. humicola</i>	0	2	0	1
<i>C. lusitaniae</i>	0	0	2	0
<i>C. stellatoidea</i>	0	1	0	0
<i>C. krusei</i>	1	0	0	0
Total	84	52	43	35

TABLA 3
DISTRIBUCION DE SEROTIPOS DE *Candida albicans* POR HOSPITAL

HOSPITAL	<i>C. albicans</i>	Serotipo A	Serotipo B
	(n)	n (%)	n (%)
HP CMN SXXI	33	14 (42)	19 (58)
INPer	11	9 (82)	2 (18)
INCan	71	29 (41)	42 (59)
HO CMN SXXI	34	18 (53)	16 (47)
Total	149	70 (47)	79 (53)

TABLA 4
RESULTADOS DE RESISTENCIA Y SEROTIPOS DE *Candida albicans*

ANTIMICOTICOS	SEROTIPO A		SEROTIPO B		VALOR DE p*
	n (%)		n (%)		
	Sensible	Resistente	Sensible	Resistente	
ETOCONAZOL	47 (67)	23 (33)	61 (77)	18 (23)	0.233
LUCONAZOL	47 (67)	23 (33)	58 (73)	21 (27)	0.510
TRACONAZOL	33 (47)	37 (53)	46 (58)	33 (42)	0.234

* Prueba estadística: χ^2

TABLA 5
RESISTENCIA DE *Candida albicans* SEROTIPO A POR HOSPITAL

ANTIMICOTICO	HP CMN SXXI n = 14 n (%)	HO CMN SXXI n = 18 n (%)	INCan n = 29 n (%)	INPer n = 9 n (%)
FLUCONAZOL	2 (14)	0	1 (3)	4 (44)
KETOCONAZOL	0	0	1 (3)	0
ITRACONAZOL	2 (14)	6 (33)	4 (14)	1(11)

TABLA 6
RESISTENCIA DE *Candida albicans* SEROTIPO B POR HOSPITAL

ANTIMICOTICO	HP CMN SXXI n = 19 n (%)	HO CMN SXXI n = 16 n (%)	INCan n = 42 n (%)	INPer n = 2 n (%)
FLUCONAZOL	4 (21)	1 (6)	3 (7)	1 (50)
KETOCONAZOL	0	1 (6)	1 (2)	0
ITRACONAZOL	1 (5)	6 (38)	7 (16)	0

TABLA 7
RESISTENCIA CRUZADA DE CEPAS DE *Candida albicans* DE
ACUERDO A SEROTIPO Y HOSPITAL.

ANTIMICOTICOS	INPer		INCan		HO CMN SXXI		HP CMN SXXI	
	A (n=9)	B (n=2)	A (n=29)	B (n=42)	A (n=18)	B (n=16)	A (n=14)	B (n=19)
KETO-FLUCO	0	0	1	1	1	0	0	0
KETO-ITRA	0	0	5	5	5	2	0	0
FLUCO-ITRA	1	0	3	4	0	1	0	0
ITRA-KETO-FLUCO	0	0	7	6	0	0	3	2
TOTALES	1	0	16	16	6	3	3	2

TABLA 8
RESISTENCIA ANTIMICOTICA DE *Candida no*
albicans

ANTIMICOTICO	<i>C. parapsilosis</i> n=23	<i>C. tropicalis</i> n=15	<i>C. glabrata</i> n=11
KETOCONAZOL	0	1	1
FLUCONAZOL	3	3	0
ITRACONAZOL	4	4	2

DISCUSION

En este estudio además de haber aumentado el tamaño de muestra de cepas de *Candida albicans*, se incluyeron las *Candida no albicans*. Encontramos que los resultados muestran que *C. albicans* continua siendo el agente que se aísla con mayor frecuencia, coincidiendo con los resultados de otros estudios ^{28, 33, 34}. Por otra parte, de las *Candida no albicans*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. glabrata* fueron las que en los resultados globales ocuparon los primeros lugares, lo cual concuerda a los reportes epidemiológicos realizados en otros sitios y en poblaciones de riesgo para candidiasis ^{28, 33}.

Para el objetivo de este estudio se incluyeron únicamente levaduras identificadas como *Candida* sp. obtenidas de pacientes atendidos en los cuatro hospitales, que con base en sus características era esperado tuvieran alta frecuencia de candidiasis. En un trabajo previo realizado en el HP CMN SXXI, se encontró predominio de *C. albicans* serotipo A ²³. Sin embargo, en este estudio la relación de *C. albicans* serotipo B y serotipo A fué de 1.3, de las cepas estudiadas del HP CMN SXXI, lo cual sugiere un desplazamiento en el predominio del serotipo B. Este fenómeno se observó igualmente en el INCan, donde la relación *C. albicans* serotipo A/serotipo B es de 1.4, de esta institución desconocíamos la frecuencia de aislamiento de cada uno de los serotipos de *C. albicans*; empero, el resultado ubica al serotipo B como el de mayor predominio en los pacientes atendidos en ese hospital. Por otra parte en el HO CMN SXXI, la relación de *Candida albicans* serotipo A/serotipo B es de 1.1, lo cual implica que ambos serotipos en dicha institución se aíslan casi con similar frecuencia, y al igual que lo

comentado para INCan, no contamos con antecedentes que nos permitan contrastar si ha habido algún cambio en cuanto al predominio de un serotipo específico. En el único hospital en el cuál hubo predominio de *C. albicans* serotipo A fué en el INPer, pero la muestra estuvo constituida por once cepas. En el análisis global de todas las cepas de *Candida albicans* destaca la mayor frecuencia de identificación de *C. albicans* serotipo B, este resultado constituye la primera evidencia en México de un fenómeno microbiológico ya documentado en pacientes inmunocomprometidos en otras partes del mundo ^{21, 22}.

Con respecto a las *Candida no albicans*, las especies que predominaron son las mencionadas en el primer párrafo. Es de hacer notar que *C. parapsilosis* predominó en el INPer, esto probablemente asociado a un brote epidémico y al origen exógeno de la infección. Otras especies como *C. glabrata* y *C. tropicalis* fueron aisladas en tres de los cuatro hospitales participantes, y si bien el número de aislamientos no superan las *C. albicans*, a excepción del INPer, pareciera que se está incrementando la frecuencia con que participan en infecciones intrahospitalarias de hospederos inmunocomprometidos en nuestro medio. No encontramos una explicación del porqué de este fenómeno. Pero estos resultados deben ponernos en alerta con respecto a la amenaza que las enfermedades invasivas causadas por estos agentes representan, tal y como se ha encontrado en hospitales de otros países ^{26, 33}.

En los resultados obtenidos en el HP CMN SXXI en 1995 no se observaron diferencias en relación a serotipo y sensibilidad, ni resistencia para anfotericina B ²³. No parece ser que el serotipo este asociado directamente a resistencia, al menos para las drogas antimicóticas que se probaron.

De los únicos antecedentes con los cuáles podemos hacer comparaciones son con los de Gutiérrez y colaboradores ²³, y es de hacer notar que a diferencia de sus resultados en esta investigación la resistencia es mayor para los triazoles que para ketoconazol.

Existe evidencia de que el gen 14DM le confiere a *Candida* la capacidad de resistencia para azoles y triazoles ³⁵. Si bien el objetivo y los experimentos hechos en este estudio no estuvieron orientados a conocer el mecanismo por el cuál hay resistencia cruzada a los antimicóticos, se observó que el fenómeno existe en nuestro medio y fué frecuente entre las cepas analizadas; se destaca algo no observado previamente ²³, la resistencia cruzada entre itraconazol y fluconazol, o lo que es más grave entre itraconazol, fluconazol y ketoconazol. Aunque estos son resultados *in vitro*, es de hacer notar que si no se adoptan medidas estrictas para el uso de antimicóticos en los pacientes inmunocomprometidos, es probable que el problema que se ha detectado se agrave más, como lo han comentado grupos de expertos en el tratamiento de pacientes inmunocomprometidos ²⁵.

³⁶

La resistencia observada entre las *Candida* no *albicans* no fué alta, y a diferencia de otros reportes, tampoco hubo cepas resistentes a anfotericina B ²⁵, no obstante, al igual que *C. albicans*, la mayor resistencia fué para itraconazol y fluconazol. La resistencia cruzada para azoles y triazoles fué evidente en este grupo.

Al analizar los resultados globales de sensibilidad encontramos que la resistencia a los triazoles (fluconazol e itraconazol) se ha incrementado en los dos últimos años en el HP CMN SXXI, a diferencia del estudio anterior donde no se encontraron cepas resistentes a itraconazol ²³.

En el INPer la especie de *Candida* más frecuente fué *C. parapsilosis*, no se observan cepas resistentes a ketoconazol, pero sí a los triazoles, lo que confirma la resistencia cruzada para estos últimos.

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que las pruebas de sensibilidad para antimicóticos debieran realizarse con el afán de constituirse una herramienta útil para guiar el tratamiento de los pacientes con candidiasis; sin embargo, habría que realizar estudios en que se analice la sensibilidad de *Candida* sp, en relación con la evolución clínica del paciente y el tratamiento que recibe.

CONCLUSIONES

1. *Candida albicans* fué la especie que se aisló con mayor frecuencia en este estudio.
2. El serotipo B de *Candida albicans* fué el que se identificó con mayor frecuencia.
3. Hasta este estudio no se encontraron cepas de *Candida* sp resistentes a anfotericina B.
4. La resistencia a los triazoles (fluconazol e itraconazol) se ha incrementado en los dos últimos años en el HP CMN SXXI, fenómeno que no es posible extrapolarlo a otros hospitales, ya que no contamos con antecedentes sobre sensibilidad.

BIBLIOGRAFIA

1. Odds FC. *Candida* and candidosis. Baltimore: University Park Press, 1979; XVII:16.
2. Rippon JW. Tratado de micología médica. 3a. ed. Chicago: Interamericana - Mc Graw - Hill, 1990: 574 - 628.
3. Whelan WL, Kirsh DR, Kwon - Chung KJ, Wahl SM, Smith PD. *Candida albicans* in patients with the acquired immunodeficiency syndrome: absence of novel or hypervirulent strain. J Infect Dis 1990; 162: 513 - 518.
4. Edwards JE Jr. *Candida* species. In Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. editores. Principles and practice of infectious diseases. 4th ed. New York. Churchill Livingstone, 1995: 2289 - 2306.
5. Warren NG, Hanzen KC. *Candida*, *Criptococcus* and other yeast of medical importance. In Murray PR. Manual of clinical microbiology. 6th ed. Washington, DC. ASM Press, 1995: 723 - 737.
6. Stein DK, Sugar AM. Fungal infections in the immunocompromised host. Diagn Microbiol Infect Dis 1989; 12: 221S - 228S.
7. Komshian SV, Uwaydah AK, Sobel JD, Crane LR. Fungemia caused by *Candida* species and *Torulopsis glabrata* in the hospitalized patient. Rev Infect Dis 1989; 11: 379 - 390.
8. Reiss E, Morrison CJ. Nonculture methods for diagnosis of disseminated candidiasis. Clin Microbiol Rev 1993; 6: 311 - 323.
9. Beck - Sagué CM, Jarvis WR, and the National Nosocomial Infections Surveillance System. Secular trends in the epidemiology of nosocomial

- fungal infections in the United States, 1980 - 1990. *J Infect Dis* 1993; 167: 1247 - 1251.
10. Georgopapadakou NH, Walsh TJ. Antifungal agents: chemotherapeutic targets and immunologic strategies. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 279 - 286.
11. Banerjee SN, Emori TG, Culver DH, Gaynes RP, Jarvis WR, Horan T, cols. Secular trends in nosocomial primary bloodstream infections in the United States, 1980 - 1989. *Am J Med* 1991; 91 (Suppl 3B): 86S - 89S.
12. Fraser VJ, Jones M, Dunkel J, Storfer S, Medoff G, Dunagan WC. Candidemia in a tertiary care hospital: epidemiology, risk factors, and predictors of mortality. *Clin Infect Dis* 1992; 15: 414 - 421.
13. Ballows A. *Manual of Clinical Microbiology*. 5a ed. Washington, DC: American Society for Microbiology, 1991: 1173.
14. Pérez MA. Hemocultivos: Experiencia en el Hospital Infantil de México (1990 - 1991). *Enf Infecc Microbiol* 1992; 12: 188 - 191.
15. Guinet RMF, Gabriel SM. *Candida albicans* group A - specific soluble antigens demonstrated by quantitative immunoelectrophoresis. *Infect Immun* 1980; 29: 853 - 858.
16. Hanseclever HF, Mitchell WO. Antigenic studies of *Candida*. I. Observation of two antigenic groups in *Candida albicans*. *J Bacteriol* 1961; 82: 570 - 573.
17. Summers DF, Groliman AP, Hanseclever HF. Polysaccharide antigens of *Candida* cell wall. *J Immunol* 1964; 92: 491 - 499.
18. Stiller RL, Bennett JE, Sholer HJ, Wall M, Polak A, Stevens DA. Susceptibility to 5 - fluorocytosine and prevalence of serotype in 402

Candida albicans isolates from United States. Antimicrob Agents Chemother 1982; 22: 482 - 487.

19. Brawner D. Comparison between methods for serotyping of *Candida albicans* produces discrepancies in results. J Clin Microbiol 1991; 29: 1020 - 1025.

20. Auger P, Dumas C, Joly J. A study of 666 strains of *Candida albicans*: correlation between serotype and susceptibility to 5 - fluorocytosine. J Infect Dis 1979; 139: 590 - 594.

21. Brawner D, Anderson GL, Yuen KY. Serotype prevalence of *Candida albicans* from blood culture isolates. J Clin Microbiol 1992; 30: 149 - 153.

22. Brawner DL, Cutler JE. Oral *Candida albicans* isolates from nonhospitalized normal carriers, immunocompetent hospitalized patients, and immunocompromised patients with or without acquired immunodeficiency syndrome. J Clin Microbiol 1989; 27: 1335 - 1341.

23. Gutiérrez GT, Díaz PH, Solórzano SF. Serotipificación y sensibilidad a cuatro antimicóticos de cepas de *Candida albicans* aisladas de pacientes pediátricos. Tesis de posgrado. Universidad Nacional Autónoma de México, 1995.

24. DeMuri GP, Hostetter MK. Resistance to antifungal agents. En: Schreiber JR, Goldmann DA, editores. The Pediatric Clinics of North America. Philadelphia: WB Saunders Company, 1995; vol 42: 665 - 685.

25. Law D, Moore CB, Wardle HM, Ganguli LA, Keaney GL, Denning DW. High prevalence of antifungal resistance in *Candida* spp. from patients with AIDS. J Antimicrob Chemother 1994; 34: 659 - 668.

26. Wingard JR. Infections due to resistant *Candida* species in patients with cancer who are receiving chemotherapy. Clin Infect Dis 1994; 19 (Suppl 1): S49 - S53.
27. Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of *Candida* species to fluconazole. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 1 - 8.
28. Iwen PC, Kelly DM, Reed EC, Hinrichs SH. Invasive infection due to *Candida krusei* in immunocompromised patients not treated with fluconazole. Clin Infect Dis 1995; 20: 342 - 347.
29. Espinel IA, Rodriguez TJ, Martinez SJ. Comparison of two alternative microdilution procedures with the National Committee for Clinical Laboratory Standards reference macrodilution method M27 - P for in vitro testing of fluconazole - resistant and susceptible isolates of *Candida albicans*. J Clin Microbiol 1995; 33: 3154 - 3158.
30. Barchiesi F, Colombo AL, McGough DA, Rinaldi MG. Comparative study of broth macrodilution and microdilution techniques for in vitro antifungal susceptibility testing of yeast by using the National Committee for Clinical Laboratory Standards' proposed standard. J Clin Microbiol 1994; 32: 2494 - 2500.
31. Sewell DL, Pfaller MA, Barry AL. Comparison of broth macrodilution, broth microdilution, and E test antifungal susceptibility test for fluconazole. J Clin Microbiol 1994; 32: 2099 - 2102.
32. Espinel IA, Pfaller M, Erwin ME, Jones RN. Interlaboratory evaluation of Etest method for testing antifungal susceptibilities of pathogenic yeast to five antifungal agents by using casitone agar and solidified RPMI 1640 medium with 2% glucose. J Clin Microbiol 1996; 34: 848 - 852.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

33. Girmenia C, Martino P, De Bernardis F, Gentile G, Boccanera M, Monaco M, y cols. Rising incidence of *Candida parapsilosis* fungemia in patients with hematologic malignancies: clinical aspects, predisposing factors, and differential pathogenicity of the causative strains. Clin Infect Dis 1996; 23: 506 - 514.
34. Hay RJ. Antifungal therapy and the new azole compounds. J Antimicrob Chemother 1991 (Supp. A); 28: 35 - 46.
35. Sanglard D, Kuchler K, Ischer F, Pagani JL, Monod M, Bille J. Mechanisms of resistance to azole antifungal agents in *Candida albicans* isolates from AIDS patients involve specific multidrug transporters. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 2378 - 2386.
36. Maenza JR, Merz WG, Romagnoli MJ, Keruly JC, Moore RD, Gallant JE. Infection due to fluconazole - resistant *Candida* in patients with AIDS: prevalence and microbiology. Clin Infect Dis 1997; 24: 28 - 34.