



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

SERVICIO DE DERMATOLOGÍA HOSPITAL GENERAL DE MÉXICO O. D.

TÍTULO

***“Sensibilidad in vitro, frecuencia y principales especies involucradas
en candidosis ungueal en pacientes trasplantados de riñón”***



TESIS DE POSGRADO

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

ESPECIALISTA EN DERMATOLOGÍA

PRESENTA:

DRA. CLAUDIA BAÑOS SEGURA

ASESOR DE TESIS: DR. ANDRÉS TIRADO SÁNCHEZ

PROFESOR TITULAR DEL CURSO: DRA. ROSA MARIA PONCE OLIVERA

MÉXICO, D. F. JULIO 2013



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.

TÍTULO

“Sensibilidad in vitro, frecuencia y principales especies involucradas en candidosis ungueal en pacientes trasplantados de riñón”

Dr. José Francisco González Martínez

Director de Educación y Capacitación en Salud

Hospital General de México, O.D.

Dra. Rosa María Ponce Olivera

Profesor titular y Jefa del Servicio de Dermatología

Hospital General de México, O.D.

Dra. Ivonne Arellano Mendoza

Médico Adscrito al servicio de Dermatología

Hospital General de México, O.D.

TUTOR DE TESIS

DR. ANDRÉS TIRADO SÁNCHEZ

Médico Adscrito al Servicio de Dermatología

Hospital General de México

COTUTORES DE TESIS

DRA. ROSA MARÍA PONCE OLIVERA

Jefa del Servicio de Dermatología

Hospital General de México

DRA. IVONNE ARELLANO MENDOZA

Médico Adscrito al servicio de Dermatología

Hospital General de México

A mis padres
Por su amor y apoyo incondicional
a lo largo de mi vida

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis la dedico a todas las personas que formaron parte en su elaboración en especial al Servicio de Trasplantes y al laboratorio de Micología de este hospital para hacer uso de sus instalaciones y recursos.

A mi jefa de Servicio la Dra. Rosa María Ponce, por su interés, motivación, enseñanzas y visión para mi formación como futura dermatóloga.

A la Dra. Ivonne Arellano, por sus enseñanzas, ayuda, comprensión y apoyo en estos años de formación académica.

Al Dr. Andrés Tirado, como mi tutor de tesis, por su ayuda incondicional en la elaboración de esta tesis, por su apoyo académico y por fomentar en nosotros el interés por la investigación médica.

Finalizo agradeciendo a todos mis maestros que integran el servicio, por su paciencia y por compartir parte de su sabiduría y experiencia clínica con la mejor disposición para mi formación académica.

ÍNDICE

Resumen Estructurado/Summary	8
PARTE I Marco Teórico (Antecedentes)	
Definición	12
Epidemiología	12
Sexo y Edad	13
Factores asociados	14
Agentes etiológicos y clasificación taxonómica	14
Patogenia	16
Cuadro clínico y clasificación	17
Diagnóstico	19
Tratamiento	22
Mecanismos de resistencia a los azoles	28
Pruebas de sensibilidad	29
PARTE II Material y método	
Diseño del estudio	34
Criterios de inclusión y exclusión	34
Procedimiento	36
Análisis estadístico	38
Aspectos éticos y de bioseguridad	38
Resultados	39
Discusión	49
Conclusiones	52
Referencias	56

ÍNDICE DE TABLAS, GRÁFICOS Y FIGURAS

Tabla 1	15
Tabla 2	16
Tabla 3	19
Tabla 4	40
Tabla 5	40
Tabla 6	40
Tabla 7	42
Tabla 8	44
Tabla 9	45
Tabla 10	48
Gráfico 1	39
Gráfico 2	39
Gráfico 3	41
Gráfico 4	41
Gráfico 5	43
Gráfico 6	43
Figura 1	45
Figura 2	46
Figura 3	46
Figura 4	47
Figura 5	47

ANEXOS

Anexo 1.	63
Hoja de recolección de datos	
Anexo 2.	64
Carta de Consentimiento informado	

“Sensibilidad *in vitro*, frecuencia y principales especies involucradas en

candidosis ungueal en pacientes trasplantados de riñón”

RESUMEN ESTRUCTURADO.

Antecedentes. En los últimos años se ha reportado un mayor número de casos de micosis superficiales en pacientes inmunosuprimidos; lo anterior debido principalmente al uso de fármacos inmunosupresores, al uso indiscriminado de antibióticos y antifúngicos. La onicomycosis por especies de *Candida* en este grupo de pacientes, puede ser la puerta de entrada para una fungemia que podría ser letal, por lo cual se deben realizar pruebas de sensibilidad *in vitro* para iniciar un tratamiento dirigido al agente causal, en la actualidad existen métodos comerciales para su realización, entre éstos se encuentra el Fungitest (FG) que es un método colorimétrico para evaluar la sensibilidad *in vitro* (SV) en presencia de 6 agentes antimicóticos (5-fluorocitosina, anfotericina B, miconazol, ketoconazol, itraconazol, fluconazol) a 2 diferentes concentraciones, se considera una prueba confiable, que permitiría dar un tratamiento oportuno y evitar así una vía de entrada para candidosis sistémica invasiva.

Planteamiento del Problema. Existen pocos estudios que evalúen la frecuencia de candidosis ungueal (CU) en pacientes trasplantados, las especies involucradas y sus patrones de sensibilidad *in vitro*. La importancia de evaluar estos aspectos es por el aumento de las infecciones por este hongo oportunista, a la aparición de nuevas especies y cepas menos susceptibles a las drogas antifúngicas más utilizadas.

Objetivos. Determinar la frecuencia, agentes aislados y sensibilidad *in vitro* en candidosis ungueal en pacientes trasplantados de riñón en el Hospital General de México “Dr. Eduardo Liceaga”.

Metodología. Se realizó un estudio transversal, descriptivo y observacional en pacientes con trasplante renal que acudieron a consulta del Servicio de Trasplantes y se diagnosticaron por el laboratorio de Micología, mediante examen directo y cultivo. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación del mismo hospital.

Resultados. Se incluyeron 85 pacientes (37 mujeres, 44% y 48 hombres, 56%), con un rango de edad de 19 a 54 años (media 30.5 ± 9.77 años). Un 6% (5 pacientes) de la población presentó candidosis ungueal, las especies aisladas fueron en 3 sujetos con *C. parapsilosis*, en un sujeto *C. glabrata* y en otro sujeto *C. guilliermondii*. Dos cepas de *C. parapsilosis*, una de *C. glabrata* y otra *C. guilliermondii* presentaron sensibilidad *in vitro* a altas concentraciones a los 6 antimicóticos. Sólo una cepa de *C. parapsilosis* fue sensible dosis-dependiente a itraconazol/fluconazol y resistente a ketoconazol y miconazol.

Conclusiones. Los pacientes trasplantados de riñón no presentaron mayor frecuencia de candidosis ungueal que en la población general. *Candida albicans* no fue la principal especie involucrada en estos pacientes. Se debe realizar pruebas de sensibilidad *in vitro* para dar un adecuado tratamiento y disminuir la resistencia antifúngica.

Palabras clave: candidosis ungueal (CU) Fungitest (FG) Sensibilidad *in Vitro* (SV)

“*In vitro* sensibility, frequency and species involved in nail candidosis in kidney transplant recipients”

SUMMARY

Background. In recent years it has been reported a large number of cases of superficial fungal infections in immunosuppressed patients, mainly because the indiscriminate use of immunosuppressive drugs, antibiotics and antifungals. Onychomycosis due to *Candida* species in this group of patients may be the gateway for fungemia that could be lethal, therefore should be tested for *in vitro* sensibility to start treatment directed to the causative agent, currently commercial methods exist for its realization, among these is the Fungitest (FG) is a colorimetric method to evaluate the *in vitro* susceptibility to six antifungal agents (5-fluorocytosine, amphotericin B, miconazole, ketoconazole, itraconazole, fluconazole) at 2 different concentrations, is considered a reliable test, that will allow a timely treatment and will avoid to get an invasive systemic candidiasis.

Problem approach. There are few studies that evaluate the frequency of nail's candidiasis in kidney transplant recipients, the species involved and their *in vitro* sensibility patterns. The importance to assess these aspects is because the increased amount of infections by this opportunistic fungal, the emergence of new species found and less susceptible strains to antifungal drugs most commonly used.

Objectives. To determine the frequency, the isolated agents and *in vitro* sensibility of Kidney transplant recipients with nail's candidiasis at The General Hospital of Mexico "Dr. Eduardo Liceaga".

Methodology. This was a cross-sectional, descriptive and observational study in Kidney transplant recipients who consulted to the Transplant's Department and were diagnosed by the Mycology's Laboratory, by direct microscopy and mycological culture. The study was approved by the Ethics's Committee of the same hospital.

Results. We included 85 patients (37 women, 44% and 48 men, 56%), with an age range of 19-54 years (mean 30.5 ± 9.77 years). A 6% (5 patients) of the patients had nail's candidiasis, the species isolated were three patients with *C. parapsilosis*, one patient *C. glabrata* and another one with *C. guilliermondii*. Two strains of *C. parapsilosis*, one strain *C. glabrata* and the other one *C. guilliermondii* showed *in vitro* sensibility to high concentrations of 6 antifungals. Only one strain of *C. parapsilosis* was dose-dependent sensitive to itraconazole / ketoconazole, fluconazole and resistant to ketoconazole and miconazole.

Conclusions. Kidney transplant recipients did not show an increased frequency of nail's candidiasis as the general population. *Candida albicans* was not the main specie found involved in this patients, it should be performed *in vitro* sensibility tests to provide appropriate treatment and lower antifungal's resistance

Keywords: nail candidiasis (CU) Fungitest (FG) *in vitro* sensibility (SV)

PARTE I. ANTECEDENTES

1. DEFINICIÓN

La onicomicosis se define como infección de la unidad ungueal, causada principalmente por 3 tipos de hongos: los dermatofitos, especies de *Candida* y hongos mohos, puede afectar a la matriz, lámina, lecho, cutícula, tejido mesenquimal y pliegues ungueales. Esta micosis representa un problema médico importante que afecta la calidad de vida del paciente, considerándose un problema de salud pública (1).

2. EPIDEMIOLOGÍA

En la literatura consultada se encuentran reportes que muestran la existencia de un 20% aproximadamente de pacientes de entre 40 y 60 años de edad con onicomicosis (1), constituyendo el 30% de todas las infecciones micóticas superficiales (1,2,3), y cerca del 50% de los trastornos ungueales (4,5).

En Estados Unidos y Canadá se reporta una prevalencia del 6.5% y 14% respectivamente, en Europa del 29.6 % (6). Las especies de *Candida* son potencialmente patógenos como causa de onicomicosis especialmente en pacientes inmunocomprometidos, Abad-González y cols, estudiaron 5.221 casos de onicomicosis, el 11,1% fue por *Candida* sp. siendo el 31,8% de estas levaduras aisladas de pacientes adultos con diabetes mellitus, manifestándose en aproximadamente un tercio de los pacientes diabéticos observándose 2.7 veces más que en individuos normoglucémicos (7). López y Mayorga (citado por Martínez y cols) realizaron un estudio en 100 pacientes diabéticos tipo 2 con onicomicosis de pies y tiña de los pies, en los que aislaron *Candida* sp en pies del 27.2% y en uñas del 16% (8); en otro estudio realizado en el norte y sur de América en pacientes con VIH, se reportó una prevalencia de onicomicosis del 23.2% y otras series la reportan en 25% (2) siendo los principales organismos los dermatofitos seguidos de especies de *Cándida*.. Algunos estudios refieren un

predominio de *Candida* sobre otras especies en onicomicosis, esto se reporta en un estudio realizado en Estados Unidos en 11 estados durante 1999 al 2002, en el que se demostró que más del 70% de las onicomicosis son producidas por especies de *Candida*, Ataides *et al.* reportan en 102 muestras de pacientes con onicomicosis un predominio de levaduras del 56.8% frente a un 30.4% para dermatofitos (4). Otros estudios lo reportan como la segunda causa más común de onicomicosis (9), Gupta y cols, (citado por Abad-González y cols) (7) encontraron que en Canadá la onicomicosis por *Candida* se manifiesta en el 2.8%.

En México, aún no contamos con estudios sobre la prevalencia de esta enfermedad, aunque de acuerdo al 1er Consenso Nacional de Micosis Superficiales, estas infecciones ocupan el segundo lugar de frecuencia, después de los dermatofitos.

La incidencia de infecciones por *Candida* se ha visto en aumento, esto asociado al uso indiscriminado de antibióticos de amplio espectro, al uso inadecuado de catéteres venosos centrales, dispositivos protésicos, nutrición parenteral, reemplazo renal (dializados y transplantados) y terapéutica con fármacos inmunosupresores (10,11).

La onicomicosis por especies de *Candida* se considera como una forma de baja relevancia clínica, sin embargo, puede ser la puerta de entrada para una fungemia por *Candida* que podría ser letal para el paciente inmunosuprimido.

La mortalidad atribuible a candidemia en varios estudios se estima en un 30 a 50%. (11,12) Las especies más asociadas con sepsis son *C. glabrata* y *C. tropicalis* y en menor medida *C. krusei* (11).

3. SEXO Y EDAD

La candidosis ungueal es una micosis superficial no contagiosa producida por especies de levaduras pertenecientes al género *Candida*. Existe predilección por el sexo femenino (proporción 3:1) (13), entre los 20-40 años, se ha postulado que es más frecuente en las mujeres debido a la autoinoculación de la flora de la mucosa vaginal en las uñas y porque las mujeres frecuentemente tienen mayor

contacto con agua, detergentes y jabones en el trabajo doméstico con lo que las uñas son más propensas al trauma (14). Se presenta en las manos hasta en un 51 al 70% de los casos, mientras que en las uñas de los pies se observa en el 1-32% de los casos (4,9), Manzano y cols. reportan un 12.6% (10).

3. FACTORES ASOCIADOS

Algunos de los factores predisponentes para onicomicosis son: el uso indiscriminado de antibióticos, infección por VIH, terapia con fármacos inmunosupresores, edad avanzada, tabaquismo, enfermedades como diabetes mellitus, enfermedad vascular periférica, pérdida de la inmunidad local de la unidad ungueal secundaria a traumatismos crónicos (manicura, pedicura), uso de uñas postizas adheridas con policrilatos, ocupación entre ellos los agricultores, obreros, amas de casa, pescadores, empleados de lavanderías y atletas que tienen exposición crónica a la humedad, solventes, detergentes y jabones. (9,15,16).

4. AGENTES ETIOLÓGICOS Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Las especies de *Candida* son parte de la flora normal de piel y mucosas, se consideran comensales, sin embargo, pueden causar infecciones oportunistas dependiendo de las condiciones del huésped, inmunidad, daño a piel y mucosas y de la virulencia del agente.

El género *Candida* está constituido por levaduras con ausencia de pigmentos (melánicos y carotenoides), forma celular variable, pueden ser elípticas, globosas, cilíndricas y triangulares. Tienen pared celular con dos capas, en el caso de *C. albicans* está constituida por B-(1,3)-D glucano (50-70%), manano (20%), quitina (10-20%), proteínas (3-6%) y lípidos (1-5%). Tienen dos presentaciones morfológicas (dimorfismo): una forma pequeña y esférica conocida como levadura (4-6nm) que se reproduce por gemación holoblástica o blastoconidios y otras formas conocidas como hifas y pseudohifas (pseudomicelio), con excepción de *C.*

glabrata, la cual consiste en cadenas de levaduras unidas entre sí y separadas por constricciones; siendo este último el estado morfo genético relacionado con su capacidad patógena (9,7).

La actual taxonomía se basa en la secuenciación genética y se les ordena dentro del tipo de las levaduras ascospóradas. (Tabla 1)

Tabla 1. Taxonomía de <i>Candida</i>	
Clase	<i>Ascomycetes</i>
Subclase	<i>Hemiascomycetes</i>
Orden	<i>Saccharomycetales</i>
Familia	<i>Saccharomycetes</i>
Género	<i>Pichia, hansenula, arxiozyma</i>

Candida albicans es la principal especie responsable de la candidosis ungueal (40-70%) y hasta en un 90% en uñas de las manos, seguida de otras especies como *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii* *C. glabrata*(1,2,9) (tabla 2). la frecuencia de cada especie varía dependiendo del área geográfica y de la localización, en un estudio de en niños polacos un 10% presentaba onicomycosis, siendo *C. albicans* el patógeno predominante (9). Se ha reportado que *C. albicans* puede ser agresivo y afectar las 20 uñas en pacientes con severo inmunocompromiso; sin embargo en estudios recientes se ha observado un aumento en la frecuencia de *C parapsilosis*, *C guilliermondii* y *C tropicalis* (1,10,16). En un grupo de pacientes en Malta se encontró a *C. parapsilosis* como principal agente seguida de *C. tropicalis* y *C. guilliermondii* como patógenos causales de candidosis ungueal. Manzano y cols, reportan 5 especies principales destacando *C. parapsilosis* en (31.9%) seguida de *C. albicans* (22.4%), *C. guilliermondii* (12.7%), *C. fumata* (6.6%) y *C.tropicalis* (4.2%). Segal *et al*, reportaron una frecuencia de *C. parapsilosis* en el 39,5% de los casos de onicomycosis de las uñas de los pies y en el 36,7% de las uñas de las manos (10).

Tabla 2. AGENTES ETIOLÓGICOS DE CANDIDOSIS
<i>C. albicans</i>
<i>C. parapsilosis</i>
<i>C. tropicalis</i>
<i>C. krusei</i>
<i>C. guilliermondii</i>
<i>C. glabrata</i>
<i>C. fumata</i>

5. PATOGENIA

Las infecciones por *Candida* dependen de la inmunidad del huésped, por lo cual es más común en pacientes en donde la inmunidad celular y humoral están alteradas como en el Síndrome de DiGeorge, agamaglobulinemias, displasia del timo, los defectos ectodérmicos congénitos y adquiridos, desórdenes endócrinos tales como hipotiroidismo, hipoparatiroidismo, hipoadrenalismo, diabetes mellitus son las enfermedades sistémicas más comunes que facilitan la candidosis ungueal dependientes de la inmunidad del huésped. *Candida* como patógeno primario se observa en pacientes con inmunosupresión severa como infección por VIH y en la candidosis mucocutánea crónica (9, 12, 17-19). La enfermedad vascular periférica, malnutrición, los hábitos personales como tabaquismo y trauma crónico pueden comprometer el estado de inmunidad en este caso *Candida* actúa como patógeno secundario (9).

Las especies de *Candida* tienen diferentes mecanismos de virulencia que ayudan en la patogénesis; producen hidrolasas extracelulares entre las que se encuentra proteinasas, fosfolipasas y lipasas que promueven la invasión tisular. Este pleomorfismo fúngico produce hifas filamentosas cuando invaden el epitelio del huésped La queratina de las uñas actúan como medio propicio para el crecimiento de las diferentes especies de *Candida* (9).

Durante este proceso micótico se inhiben la expresión de péptidos antimicrobianos tales como las defensinas humanas en el epitelio de la mucosa por lo que en las uñas puede también alterar la expresión de las defensinas, sin embargo no hay

suficientes estudios que demuestren esta hipótesis. La prevalencia de *C. albicans* como principal agente de onicomicosis se debe a que produce queratinasas que las otras especies no y partículas de melanina *in vitro* y durante la infección de tejidos; algunos investigadores atribuyen a la melanina un factor protector frente a los antimicóticos, luz ultravioleta, temperatura y péptidos antimicrobianos (7,9).

6. CUADRO CLÍNICO Y CLASIFICACIÓN

Candida causa en las uñas severa distrofia, cambios de coloración y fragmentación. La pigmentación de la lámina es una característica clínica de la candidosis ungueal, algunas veces puede aparecer con paroniquia y coloración blanca amarillenta, el plato ungueal se torna ondulado. La melanoniquia puede ser muy intensa con paroniquia cuando es producida por *C. albicans*. Debido a que la etiopatogenia es multifactorial y a las diferentes presentaciones clínicas, Elewski realizó una extensa revisión de la literatura clasificando a la candidosis ungueal asociada a paroniquia, granuloma candidósico y onicolisis. (9,18).

La perionixis o paroniquia es la forma más común de candidosis ungueal, la incidencia es mayor en individuos que están en constante exposición a la humedad, y se reporta en el 70% de los casos (7). Se caracteriza por una invasión del plato ungueal después de afectar los tejidos blandos alrededor de la uña, por lo tanto se van a observar eritematosos y edematosos. Una vez que la matriz es infectada van a aparecer estrías transversas denominadas líneas de Beau; si progresa la infección, la uña se hace áspera, irregular, convexa hasta llegar a ser distrófica (2,14). La perionixis puede ser aguda y crónica. La aguda es principalmente producida por infección bacteriana, mientras que la crónica en un 95% es producida por infección por *Candida*.

El granuloma candidósico sólo se observa en pacientes con candidosis mucocutánea crónica, la mayoría de estos pacientes, tienen un inicio en edad temprana, afectando piel, uñas y membranas mucosas en las que hay una

alteración en la fagocitosis y la quimiotaxis, en algunos casos se ha asociado a concentraciones séricas bajas de ICAM-1, presentando las alteraciones ungueales desde el periodo neonatal (20). La coexistencia con el granuloma candidósico que genera lesiones nodulares profundas y escamocostrosas, se presenta en menos del 1% de los casos de onicomycosis (18). En esta forma severa, hay invasión directa del plato ungueal aumentando el grosor asociándose a paroniquia (2). En casos avanzados se produce tumefacción de la parte lateral y proximal de la uña, causando deformidad, fragilidad de la uña, que puede llevar a la separación o lisis de la uña. Es encontrada más frecuentemente en manos que en pies (7,9).

La onicolisis se manifiesta en 30% de los casos. Es clínicamente indistinguible de otras onicolisis, como la medicamentosa o por traumatismos (7). En esta forma se separa el plato del lecho ungueal; se observa queratosis subungueal distal con coloración amarillo grisácea, que produce un efecto de masa que eleva y desprende el plato ungueal del lecho. (14)

La variante distrófica total es la destrucción total del plato ungueal, el cual puede ser resultado de cualquiera de las formas clínicas anteriores (2).

La clasificación reciente identifica 4 variedades de candidosis ungueal: 1) paroniquia crónica con distrofia ungueal secundaria; 2) infección distal de la uña, la cual es rara y afecta sobre todo a pacientes con fenómeno de Raynaud o con insuficiencia vascular; no suele afectar a las uñas de los pies y produce poca queratosis subungueal; 3) candidosis mucocutánea crónica, la cual traduce una etiología multifactorial, en pacientes con disminución de la inmunidad celular, en casos severos hay engrosamiento de las uñas con formación de un granuloma y 4) candidosis secundaria a otras enfermedades del aparato ungueal, la mayoría de las veces asociada a psoriasis (17-19,21). (Tabla 3)

En la literatura se reporta que las infecciones producidas por *C. parapsilosis* se asocian con afección distal del plato ungueal, en contraste con *C. albicans* en la

cual la afección es principalmente subungueal proximal o distrófica total (4)

Tabla 3. Clasificación de Candidosis ungueal



8. DIAGNÓSTICO

Se requiere una exploración e historia clínica detalladas, la distrofia ungueal ayuda al diagnóstico. Más de la mitad de los casos están asociados a infecciones en otros sitios del cuerpo por lo que hay que realizar un examen físico detallado para encontrar infecciones asociadas.

Hay varias entidades con las que hay que realizar diagnóstico diferencial de onicomycosis; la distrofia puede ser producida por hongos, bacterias y otras condiciones como psoriasis, liquen plano, infecciones bacterianas, dermatitis por contacto, onicodistrofias traumáticas, paquioniquia congénita, tumores subungueales, síndrome de la uña amarilla y onicolisis idiopática (18). El diagnóstico preciso requiere una toma de muestra adecuada, realizar examen directo y cultivo micológico seguido de estudio histopatológico.

8.1 Examen directo

El estándar de oro para el diagnóstico de onicomycosis sigue siendo el examen directo, sin embargo es necesario realizar el cultivo para identificar la especie aislada (9). El examen directo puede dar falsos negativos en un 5 a un 15% de las muestras obtenidas (2). Si el paciente recibió tratamiento tópico o sistémico la

muestra debe obtenerse 2-4 semanas después de haber terminado el tratamiento (14). La manera de realizarla es en la parte proximal y lateral de los pliegues ungueales. En caso de onicolisis se debe realizar un raspado de la uña por debajo del plato ungueal que se encuentra separado (2). El material obtenido se coloca entre portaobjetos y cubreobjetos con un aclarante, de preferencia hidróxido de potasio (KOH) de 10 a 20%. Se debe de procesar dentro de una semana para evitar la multiplicación bacteriana (14). Al microscopio se observan grandes cúmulos de blastoconidios de 2- μ m de diámetro y pseudohifas cortas o largas e hifas, que determinan el estado patógeno y virulento de la levadura y confirman el diagnóstico.

8. 2 Cultivo

Las colonias se desarrollan en el medio de Sabouraud y papa dextrosa agar en un tiempo promedio de 48 a 72 horas, dando colonias limitadas, planas, cremosas, opacas, por lo general lisas, aunque algunas veces se presentan rugosas de color blanco o blanco amarillento. En algunas especies (*C. tropicalis* y *C. albicans*) es posible ver formaciones de pseudomicelio y micelio. Se tiñen bien con azul de algodón, PAS y Wright. Para su tipificación se requiere filamentación en suero. Se realiza en suero humano o con glucosa, glucosamina o sales de amonio. Se siembra la cepa a investigar en 0.5ml de suero, se incuba 37°C durante 3 a 31/2 horas, después se practica un examen en fresco con algún colorante o tinción. Esta prueba es presuntiva en *C.albicans* y de *C.dublinskiensis*, hay producción de pseudomicelio y clamidoconidios. Se lleva a cabo en medios como harina de maíz-agar, agar-harina de arroz o papa-zanahoria-agar, a los que se les agrega 1% de algún tensoactivo como Tween 80. Se siembra en caja de Petri por estrías y se incuba a 25°C durante 72 horas, se agrega una gota de colorante y un cubreobjetos sobre la colonia, se coloca la caja encima de la platina del microscopio para su investigación. Todas las especies oportunistas de *Candida* presentan pseudohifas largas, ramificadas, con cúmulos de blastoconidios, con excepción de *C.glabrata*. En el caso de *C. albicans* se ven clamidoconidios terminales o intercalares que miden entre 10 y 12 nm de diámetro, con una doble

membrana bien formada y para *C.dubliniensis* clamidoconidios múltiples o en racimos.

8.3 Pruebas bioquímicas.

Se basan en la fermentación y utilización de carbohidratos en medios de cultivo selectivos para el género *Candida*.

De las pruebas fisiológicas y bioquímicas se han derivado los ensayos de asimilación (auxonograma/degradación aerobia) y fermentación (zimograma/degradación anaerobia) de carbohidratos para la identificación de levaduras. Se consideran más fiables las pruebas de auxonogramas, ya que ciertos carbohidratos que forman parte de la estructura celular pueden revelar falsos positivos en la prueba de fermentación de determinadas sustancias carbonadas (22). El medio glicina glucosa sulfito de bismuto (Agar Biggy), contienen gran cantidad de citratos que eliminan la flora bacteriana, así como sulfitos que son reducidos a sulfuros, las colonias se ven de color café claro u oscuro.

En la actualidad hay medios de cultivo cromogénicos como CHROMagar-*Candida*, el cual está hecho a base de sales cromógenas y enzimas que permiten el desarrollo de las especies más comunes mediante la formación de colonias coloridas como *C. albicans* (verde-claro); *C. dubliniensis* (verde-oscuro), *C.tropicalis* (azul-gris); *C.krusei* (rosa-pálido); *C. glabrata* (rosa-violeta); *Candida* sp. (blanco-crema). Se considera que es el medio de cultivos más eficaz para el aislamiento e identificación presuntiva de las especies más frecuentes del género *Candida*, Ballesté y col reportaron para el CHROMagar-*Candida* una sensibilidad de 88 a 99% y una especificidad de 96 a 100% para identificar cepas de *C. albicans*, para cepas no *albicans* tuvo una sensibilidad de 90 a 96% y especificidad de 88 a 100%, comparado con otros medios como el Agar Biggy la sensibilidad y especificidad para identificar *C. tropicalis*, *C. glabrata*, y *C. krusei* fue superior para el CHROMagar-*Candida*. Una de las desventajas de este medio de cultivo es en los aislamientos mixtos, ya que su eficacia disminuye a menos del 50%, por lo que se tiene que realizar purificación de cepas y otra es la

interpretación subjetiva en la tonalidad de los colores ya que puede variar dependiendo del observador (8).

8.4 Histopatología

Si no se puede realizar microscopia o cultivo, como sucede en la forma distrófica de la candidosis ungueal, una alternativa para diagnóstico es el estudio histológico. Para el análisis histopatológico se utiliza tinción de PAS, la cual tiene mayor sensibilidad (92%), con respecto a la preparación con KOH (80%) y con el cultivo (59%) (2,23); algunas de las ventajas de esta tinción es que requiere menor tiempo para el diagnóstico comparado con el cultivo, aunque la obtención de la muestra resulta más invasiva. Histopatológicamente se demuestra si el hongo está invadiendo el plato ungueal o sólo esta colonizando, sin embargo no identifica la especie. La tinción con Grocott y blanco de calcofluor son más selectivos (2). Mediante microscopía electrónica se encuentran pseudohifas de *Candida* que penetran la superficie ventral del plato ungueal causando múltiples cavitaciones.

8.5 Otras técnicas diagnósticas.

Actualmente existen técnicas como MALDI-TOF por sus siglas en inglés *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization* (desorción/ionización láser asistida por matriz) y TOF por el detector de iones que se acopla al MALDI y cuyo nombre procede también de sus siglas en inglés *Time-Of-Flight*, es una técnica de ionización suave utilizada en espectrometría de masas, diseñada para ser utilizada con los péptidos y proteínas grandes de los patógenos sin desintegrar las moléculas, con esta técnica se pueden identificar diferentes especies de *Candida* como *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. magoliae*, *C. dubliniensis*, *C. lusitaniae*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. Guilliermondii*(6)

9. TRATAMIENTO

El tratamiento para onicomicosis muchas veces resulta complicado ya que la cronicidad y la recurrencia pueden dificultar la eliminación del agente patógeno, se

considera como una de las micosis superficiales con mayor resistencia al tratamiento, con una tasa de fracaso terapéutico que oscila entre el 25 y el 40% (15,16). En México se ha documentado la existencia de resistencia hasta en 27.5% de los aislamientos de *Candida* (7,24), aunque se desconoce si esta resistencia es superior en pacientes inmunosuprimidos.

La resistencia a los antifúngicos puede ser microbiológica o clínica. La resistencia microbiológica ocurre cuando el crecimiento del microorganismo infectante o el patógeno es inhibido por una concentración del agente antimicrobiano más alta que el rango observado para cepas silvestres; mientras que en la resistencia clínica, el microorganismo infectante es inhibido por una concentración de agente antimicrobiano que se asocia con una alta probabilidad de falla terapéutica (no inhibido con las concentraciones alcanzadas con dosis normales de antifúngico (25). La resistencia es un cambio de sensibilidad o susceptibilidad al antimicótico que puede medirse *in vitro*. Existen dos tipos generales de resistencia: la intrínseca, que de por sí se tiene al antimicótico antes de que entre en contacto con éste y la adquirida que induce la levadura cuando coexiste con el antifúngico (25,26).

En pacientes inmunocomprometidos (diabéticos, en edad avanzada, con infección por VIH, y/o trasplantados) se debe iniciar rápidamente el tratamiento ya que puede ser un foco de entrada para desarrollar una celulitis o candidosis sistémica. Es importante mejorar el estado inmune del paciente para lograr el máximo efecto terapéutico con los antifúngicos (21).

En los últimos años ha aumentado la falla al tratamiento con antimicóticos debido al surgimiento de levaduras resistentes, esto en parte debido a la aparición de nuevas especies patógenas, a la prescripción irracional de antimicóticos como profilaxis y al aumento de las dosis terapéuticas (6,15,26).

El tratamiento se ajusta en relación al estado de salud del paciente, la sensibilidad a antimicrobianos, los tratamientos previos, al sitio a tratar, recordar que las uñas

de los pies tardan 12 meses y las de las manos 6 meses en crecer, la dureza del plato ungueal y la localización; el tipo de tratamiento también depende de si la afección es exclusivamente en el plato ungueal o si el lecho está involucrado (27). Otro factor importante es el apego al tratamiento por el paciente, se estima que la tasa de cumplimiento del tratamiento es tan sólo del 51% (15). Los factores que influyen en una mala respuesta terapéutica son si el área afectada es mayor del 50%, la forma distrófica total, queratosis subungueal mayor a 2mm, pacientes con inmunosupresión, diabetes mellitus, insuficiencia vascular periférica, edad mayor de 65 años, cultivo positivo en 24 semanas, lento crecimiento de la uña (3,14,15)

9.1 Tópico

Las formulaciones tópicas se utilizan sólo para onicomicosis superficiales que afecta de 1-3 uñas y/o que no excedan el 50% de la superficie ungueal (6), y en casos que no está indicado un tratamiento sistémico o surgen comorbilidades durante el tratamiento. El 85% de las onicomicosis pueden no responder al tratamiento tópico (15).

- Amorolfina: Es un agente fungicida que actúa inhibiendo la síntesis de ergosterol en la membrana celular del hongo. Penetra a través de las distintas capas de la uña y su absorción a nivel plasmático es indetectable. Se aplica una o dos veces por semana, durante 6 meses para las uñas de las manos y 9-12 meses en las de los pies (17). Está recomendada en casos de tiña blanca superficial en los que hay afectación del dorso de la placa ungueal, también en la tiña subungueal distal lateral moderada y en las onicomicosis graves cuando se utiliza de forma combinada con itraconazol (15). El prurito y la dermatitis de contacto son sus principales efectos secundarios. Para candidosis ungueal se ha utilizado exitosamente en forma de crema o laca. (9)
- Ciclopiroxolamina: Es un agente fungicida que pertenece al grupo de las hidroxipiridonas, actúa como quelante del hierro y del aluminio, altera las enzimas mitocondriales, reduce la actividad de la catalasa, de la peroxidasa y el influjo de aminoácidos y nucleótidos, inhibe la absorción de potasio y de fosfato ocasionando la muerte celular (3,28). La formulación en laca al 8%

permite, tras la evaporación del solvente, concentrar en la uña cantidades de antifúngico superiores a las inhibitorias para una gran cantidad de hongos patógenos (15). La pauta de tratamiento durante el primer mes es cada 48 horas, el segundo mes dos veces por semana y a partir de tercer mes una aplicación semanal, no superando los seis meses de tratamiento (17), otra forma de aplicar la laca es diariamente por 24 semanas para uñas de manos y 48 semanas para uñas de pies. Tiene actividad frente a especies de *Candida* resistentes a azoles como *C. glabrata* y *C. krusei*. Menos del 5% presenta eritema periungueal y en el pliegue proximal de la uña (29).

En un estudio en donde comparan la eficacia de amorolfina al 5% vs ciclopiroxolamina hidrosoluble en laca al 8% en *C. parapsilosis* se observó que las concentraciones de amorolfina cerca del día 3.5 cayeron un 80% disminuyendo los coeficientes de eficacia comparado con ciclopiroxolamina que mostró una eficacia superior (30).

En casos de onicólisis es útil la aplicación tópica de bifonazol-urea, pero no se recomienda en casos de paroniquia, por el riesgo de dermatitis por contacto secundaria al efecto queratolítico de la urea (7). En paroniquia crónica se pueden utilizar tacrolimus, esteroides tópicos, siempre y cuando no esté asociado a otros hongos (7,19).

La combinación de terapia tópica y sistémica crea sinergia en sus efectos terapéuticos, lo que permite acortar el tratamiento sistémico. Rigopoulos *et al.* encontraron que la combinación de amorolfina en laca y 2 pulsos con itraconazol es más segura, efectiva y menos costosa que la monoterapia con 3 pulsos de itraconazol para casos moderados a severos de candidosis ungueal (14, 31)

9.2 Sistémico

Incluye varias categorías entre los que destacan los polienos (anfotericina), los azoles en los que el mecanismo de acción se basa en la inhibición de la enzima lanosterol desmetilasa, que induce un efecto fungistático que frena la proliferación del hongo y se necesitan concentraciones mucho más altas para conseguir el

efecto fungicida. Dentro de estos destacan los triazoles (fluconazol, itraconazol), imidazoles (clotrimazol, ketoconazol, miconazol).

La anfotericina B es un polieno que es de utilidad en el tratamiento de la candidosis mucocutánea crónica, sin embargo en la candidosis ungueal responde lentamente, ya que se une fuertemente a proteínas penetrando menos en los tejidos. En un estudio realizado en el Hospital General de México por Gutiérrez y cols, se reportó que la resistencia de *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* a la anfotericina B puede ser intrínseca o adquirida, y se asocia con alteraciones en los lípidos de la membrana celular y a las moléculas de esterol (26)

Azoles:

- Ketoconazol, fue el primer antifúngico imidazólico utilizado por vía oral, aunque en la actualidad está prácticamente en desuso debido a los efectos secundarios que presenta y a las interacciones con otros fármacos, sólo se utiliza como agente tópico.
- Fluconazol, es un antifúngico de tipo triazólico de uso oral, capaz de penetrar en las uñas a través del lecho ungueal y de la matriz con el que se alcanzan concentraciones en las uñas a las 2-3 semanas que se mantienen por 3-6 meses después del tratamiento (14). Aún no ha sido aprobado por la FDA para el tratamiento de la onicomiosis (3). Las pautas de tratamiento son de 50mg/día o de 300-450 mg/semana, presentando bajas tasas de curación en comparación con otros antifúngicos que oscilan entre el 12 y 37% en tratamientos de 6 y 12 semanas (para las uñas de manos y de los pies, respectivamente). Se han descrito porcentajes del 21 al 32% de curación tras 48 semanas de tratamiento con dosis orales de fluconazol de 150 mg/12 semanas y 150 mg/25 semanas con un 56 y un 39% de fallos terapéuticos (15), respectivamente, en promedio del 15-61% (3) Se han descrito problemas de resistencia intrínseca y adquirida, en especial entre algunas especies del género *Candida*, entre las que se encuentra *C. glabrata*, *C. krusei* (6, 30)
- Itraconazol, es un antimicótico triazólico de amplio espectro que se aprobó en 1995 por la FDA para el tratamiento de la onicomiosis; es el agente más efectivo para candidosis ungueal, superior al fluconazol, con un rango de curación micológica en formas distales de entre el 65 y el 88% (15). Es altamente lipofílico por lo que su absorción mejora con los alimentos (32). Presenta alta afinidad por la queratina con

adecuada penetración en la uña y alcanza concentraciones inhibitorias efectivas en las zonas distales, se detecta en las uñas 7 días después de iniciado el tratamiento y persiste después del tratamiento por 6-9 meses (14). Se incorpora a la matriz de la uña por difusión desde lecho ungueal, en donde forma una barrera fungistática que evita la invasión del hongo. El tratamiento se administra en forma de pulsos 200 mg/12 h durante una semana por mes, seguido de 3 semanas sin tratamiento o 200mg/día durante 2 meses para las uñas de las manos y durante 3-4meses para las uñas de los pies (21,33). En un estudio en 44 pacientes con candidosis ungueal tratados con pulsos de itraconazol por 1 semana durante 3 meses mostraron curación en uñas de pies del 90.6% y en uñas de las manos del 100% (5). El tratamiento en pulsos está aprobado por la FDA sólo para uñas de las manos. Los efectos adversos del itraconazol incluyen náuseas, dolor abdominal, dispepsia y cefaleas. Sus principales interacciones con otros medicamentos incluyen la fenitoina, los hipoglucemiantes orales, los anticoagulantes cumarínicos, la digoxina, la terfenadina, el astemizol y la ciclosporina, entre otros, al igual que otros azoles. (18).

Alilaminas

La terbinafina es un derivado de alilaminas que bloquea la síntesis del ergosterol al inhibir la enzima escualeno-epoxidasa, lo cual lleva a una disminución del ergosterol en las membranas celulares y una acumulación tóxica intracelular de escualeno (3). En estudios *in vitro*, la terbinafina tiene actividad fungicida contra los dermatofitos y *C.parapsilosis*, mientras que para *C. albicans* tiene una actividad fungistática (14,33), lo que limita su uso en esta especie. En una revisión sistemática realizada por Cribier y Bakshi en tres estudios de candidosis ungueal, se mencionan tasas de eficacia de hasta el 64% en uñas de manos con menor porcentaje en uñas de los pies (34). Segal *et al.* evaluaron la eficacia de la terbinafina durante 16 semanas a dosis de 250mg día en 20 pacientes con candidosis en uñas de pies y manos; de los que presentaban afección ungueal en pies (3 pacientes), sólo uno observó curación completa y 2 de ellos mejoría del 80%. (35) Zaidi *et al* reportaron una curación completa del 33% en 15 pacientes utilizando dosis altas de terbinafina 500mg durante 52 semanas, refiriendo que la terbinafina es efectiva contra *Candida* pero se requieren tratamientos prolongados (36).

Cuando está afectado el borde lateral de la uña o hay infección mixta, la queratina de la uña afectada puede ser extirpada quirúrgicamente. La paroniquia recalcitrante con invasión secundaria de la lámina ungueal puede ser tratada mediante excisión quirúrgica en forma de media luna del pliegue de la uña engrosada seguido por avulsión ungueal (37).

10.MECANISMOS DE RESISTENCIA DE LOS AZOLES

Los mecanismos de resistencia más importantes son: alteración de las bombas de flujo que interfieren en el transporte por flujo dependiente de ATP, disminuyendo la concentración de la droga dentro del hongo. Se han encontrado bajas concentraciones de azoles por los genes que codifican las cintas de unión a ATP (ABC), se encuentran sobrerregulados como son para *C. albicans* (MDR1, CDR1, CDR2), *C. glabrata* (CgCDR1, CgCDR2), *C.dubliniensis* (CdMDR1, CdCDR1, CdCDR2), *C. krusei* (ABC1 y 2), *C. tropicalis* (CDR1-homólogo) (35). Alteración de transporte de antimicóticos por flujo dependiente del gradiente de protones de membrana. Adquisición de mutaciones puntuales que codifican en el gen de la enzima blanco (ERG11) que desmetila lanosterol en biosíntesis del ergosterol, que por cambio conformacional, afecta la unión de azoles y finalmente por alteración en las vía de biosíntesis del ergosterol, que no permiten a los azoles interferir en la membrana celular del hongo, esto se ha relacionado a la mutación del gen ERG3 en algunas especies de *Candida* (25,38,39). Las levaduras pueden usar vías alternas de resistencia: formación en superficies sintéticas o naturales de *biofilms* o biopelículas que se organizan en forma de una densa red de células diferenciadas formando una capa de matriz extracelular, que son una barrera física para la penetración de los antifúngicos (25,26,38,39).

Se han encontrado los siguientes patrones de sensibilidad: *C.albicans*, *C. parapsilosis* y *C.tropicalis*, por lo general son susceptibles al fluconazol, mientras que las CMI de *C.glabrata* entran en la categoría de susceptible dependiendo de la dosis. Para el itraconazol, *C.glabrata* y *C.krusei* con frecuencia tienen CMI en la categoría de susceptibles dependiendo de la dosis y resistentes. Los triazoles de

última generación como el voriconazol y el posaconazol son menos activos contra cepas de *C. glabrata* que contra aislamientos de *C.albicans*, *C.krusei*, intrínsecamente resistente al fluconazol y resistente o susceptible-dependiente de la dosis de itraconazol (40).

11. PRUEBAS DE SENSIBILIDAD

Las pruebas de sensibilidad *in vitro* a los agentes antifúngicos se han convertido en una necesidad actual de los laboratorios de micología médica y de las industrias farmacéuticas, donde constituyen una de las principales líneas de investigación debido al aumento del número de micosis, la disponibilidad de nuevos agentes antifúngicos, la aparición de nuevas especies patógenas y al incremento en el número de reportes de resistencia que son causa de fracaso terapéutico, especialmente en pacientes inmunodeprimidos o con determinadas comorbilidades. Con la generación de nuevos agentes antimicóticos se deriva la necesidad de desarrollar pruebas de susceptibilidad *in vitro*, estandarizadas y clínicamente relevantes para ser utilizadas como guías terapéuticas y evaluar la actividad antifúngica.

Al inicio los estudios de susceptibilidad para antifúngicos previos y uso de métodos estandarizados eran inconsistentes y muy poco reproducibles, ya que hay muchos factores que influyen en estos ensayos, como el tamaño del inóculo, la composición y pH del medio, el formato de la prueba y la temperatura de incubación.

En 1982 el *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) actualmente *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) conformó un subcomité que se encargó de evaluar la práctica de las pruebas de susceptibilidad con antimicóticos en hospitales de Estados Unidos (41). En 1992 apareció el primer estándar internacional para susceptibilidad de levaduras basado en un método de macro-dilución en caldo (adaptado posteriormente a micro-dilución), para facilitar este procedimiento. Este documento (M27-A) fue aprobado en 1997, en el se especifican los procedimientos de macrodilución y microdilución en caldo

para la determinación de susceptibilidad en levaduras tales como *Candida* spp y *cryptococcus neoformans*, permite medir las CIMs para: anfotericina B, 5-fluorocitosina, ketoconazol, fluconazol e itraconazol de las principales especies de levaduras oportunistas, este método proporciona el tamaño y concentración del inóculo, composición del medio de cultivo, tiempo y temperatura de incubación; preparación de los antifúngicos y los requerimientos de control de calidad, demostrando una adecuada reproducibilidad en laboratorio en diversos estudios multicéntricos (42,43). En el 2002, el CLSI publicó el documento M-27-A2 el cual establece la definición de la lectura de CMI y los límites de control de calidad para los nuevos triazoles: voriconazol, posaconazol y ravuconazol.

El estándar europeo, el *Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing* del *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (AFST-EUCAST), ha desarrollado un estándar de microdilución para determinar la CMI para especies de *Candida* fermentadoras, la versión definitiva se publicó el año 2007, está basada en el NCCLS descrito en el documento M-27-A2, en ésta se incluyen algunas modificaciones que permiten la automatización de este método, se establecen los puntos de corte clínicos de acuerdo a la especie, la relación entre criterios farmacocinéticos, farmacodinámicos y la distribución de las CIMs. Algunas diferencias entre éstos son el tiempo de incubación ya que para EUCAST se requiere de 24 hrs y para el estándar CLSI de 48 hrs (44), el primero utiliza un inóculo mayor; la lectura es espectrofotométrica en EUCAST y visual en CLSI. Ambos utilizan RPMI 1640 con glutamina, sin bicarbonato y una concentración de glucosa de 0,2 (CLSI) y 2% (EUCAST) (41). Es recomendable leer en cada estándar sus propios puntos de corte, ya que pueden leer las CIMs de manera distinta. El método EUCAST es menos laborioso, más fácil de interpretar; el agregado de glucosa y el aumento del inóculo acortan el tiempo de lectura de la CIM a 24 horas, en una evaluación multicéntrica se demostró que el EUCAST es un método reproducible con una concordancia del 94% para los laboratorios.

En el 2008 se elaboró el documento M-27-A3 que contiene modificaciones en la lectura de la CMI y de los tiempos de incubación, información sobre la lectura e interpretación de los resultados de las pruebas de susceptibilidad para nuevos

agentes antifúngicos: caspofungina, anidulafungina y micafungina; se establece una escala numérica para la comparación de la lectura visual de la cantidad de crecimiento en los tubos control e incluye los métodos de macro y microdilución para proporcionar resultados similares de CMI (40).

En el 2009, ante la emergencia de cepas resistentes al fluconazol, el CLSI publicó el estándar por difusión en agar M44-A, de esta forma, es posible determinar de manera rápida la sensibilidad al fluconazol en levaduras de *Candida*, es un método de difusión en disco, simple y rápido, desarrollado para levaduras y disponible para fármacos solubles en agua, tales como 5-fluorocitosina (25,45). Se obtiene un halo de inhibición cuya medición correlaciona muy bien con el método de referencia, lo cual ha sido demostrado en estudios multicéntricos. La desventaja es que sólo existen puntos de corte para fluconazol y voriconazol, además de que la inhibición parcial del crecimiento dificulta determinar la CIM con precisión. Puede haber falsos positivos para *C. glabrata* y otras especies de *Candida* no *albicans* y pobre concordancia comparado con el método de referencia para fluconazol e itraconazol (46). El uso de azul de metileno disperso en la superficie de la placa parece mejorar los límites de la zona de inhibición y facilitar la lectura (47).

11.1 Métodos comerciales

El documento M27-A del NCCLS, se considera un método de referencia, sin embargo su técnica de realización es muy compleja y laboriosa, sobre todo en la preparación de las diluciones de los fármacos y del inóculo, existiendo dificultades para la obtención de los antifúngicos como sustancias puras valoradas, por eso se han creado métodos comerciales en los laboratorios clínicos que han permitido un gran avance en los estudios de sensibilidad a antifúngicos, facilitando su introducción en la rutina de trabajo (40,48). Entre éstos se encuentran los siguientes:

- Etest, aprobado por la *Food and Drug Administration* (FDA) para susceptibilidad *in vitro* de *Candida* sp a fluconazol e itraconazol, este es un método simple, que involucra la inoculación del hongo en placas de agar, seguido de la aplicación de una

tira plástica inerte impregnada con un gradiente de concentración del antifúngico, tras una incubación a 35° durante 24-48 h para *Candida* sp y 48-72 h para *C. neoformans* se determina la CIM en el punto de intersección de la elipse de inhibición de crecimiento con la tira de Etest (32,42). La correlación con el método M27-A2 varía entre el 60 y el 100%, según algunos estudios. (33)

- Sensitre Yeast One, es un método semiautomatizado, estandarizado y cómodo, basado en las recomendaciones del documento M27-A del NCCLS, se basa en la microdilución en caldo, pero con un sustrato cromogénico para facilitar la interpretación de la CIM. Su correlación con el método de referencia es bastante buena, tiene la ventaja de una lectura más objetiva, ya que los pocillos de crecimiento son de color rosa y cuando no hay crecimiento se mantienen azules, muestra una correlación de (70-100%) con el método de referencia, la variación de color del indicador reduce el efecto de arrastre característico de los azoles en los métodos de dilución (32,47,48).
- Vitec, es un método automatizado para determinar la CIM que utiliza una lectura espectrofotométrica facilitando su lectura, tiene la ventaja de encontrarse acoplado a la identificación de levaduras con un alto nivel de concordancia y reproducibilidad de los resultados de 93.7 a 97.9%(47)
- Fungitest, es una prueba de sensibilidad, calorimétrica basada en un método de microdilución a seis antifúngicos a dos concentraciones diferentes: Anfotericina B (2 y 8µg/ml); 5-Fluorocitosina (2 y 32 µg) Miconazol (0.5 y 8 µg) Fluconazol (8 y 64 µg) Itraconazol y Ketoconazol (0.5 y 4 µg) Este equipo permite clasificar a la cepa como sensible, resistente o con sensibilidad intermedia al antifúngico. Consiste en una microplaca con 16 pozos: dos controles negativos, dos controles positivos de crecimiento y 12 pozos que contienen los antifúngicos deshidratados, a los pozos se les adiciona un medio RPMI 1640 amortiguado, con un indicador redox (azul de alomar). La estimación del crecimiento se basa en la reducción del indicador, que torna el medio de azul a rosa. Cuando el crecimiento de la levadura es inhibido por el agente antifúngico, el medio permanece azul (49). Es un método en los que se reporta una excelente correlación con anfotericina B y fluocitosina (100 y 99% respectivamente) con los azoles es menor reportándose para el itraconazol de 56- 64% y para el fluconazol del 70-76%, sin embargo es un método rápido (50). Davey *et al* estudió de forma comparativa el método de microdilución en medio líquido (M27-A) en donde se presenta una

concordancia total para anfotericina B, independientemente de la cepa y únicamente tras categorizar la sensibilidad de las cepas en sensibles, intermedias y resistente fue superior el método de microdilución en medio líquido (M27A). La concordancia global con el método de referencia fue superior al 70% para todas las especies y superior al 75% para los cinco antifúngicos incluidos. Para fluconazol e itraconazol, esa concordancia fue del 75 y 83% respectivamente en el conjunto de cepas estudiadas, destacando el 100% para ambas técnicas en *Candida parapsilosis* el 94-98% para *C. albicans* (49).

- Sistema ATB es una técnica de dilución en caldo, no colorimétrica, basada en el M27-A del CLSI, mientras que las tabletas Neo-Sensitabs se utilizan para la determinación de la sensibilidad por difusión en agar (44). El ATB F3 es un método eficaz y confiable para determinar la sensibilidad a la anfotericina B y a la 5-fluorocitosina, sin embargo, presenta algunas limitaciones con las especies *C. glabrata* y *C. krusei* y con el antifúngico fluconazol (45).

Existen otros métodos para susceptibilidad antifúngica, que debido a su mayor complejidad se realizan en laboratorios de referencia o altamente especializados, entre éstos se encuentran la determinación de concentración fungicida mínima, determinación de curvas de muerte, citometría de flujo y cuantificación de ergosterol.

PARTE II. MATERIAL Y MÉTODO

METODOLOGÍA.

Tipo y diseño del estudio:

Se realizó un estudio transversal, descriptivo y observacional, comprendido en el periodo de febrero a abril del 2013. Se revisaron a los pacientes en la consulta externa del servicio de trasplantes del Hospital General de México. El estudio fue aprobado por Comité de Ética e Investigación de este hospital con número de registro DI/12/109/3/95

Población y tamaño de la muestra:

Criterios de Selección:

Inclusión y exclusión

1. Pacientes con trasplante renal que fueron trasplantados en este hospital.
2. Pacientes registrados en la consulta externa del Servicio de Trasplantes
3. Género masculino o femenino
4. Mayores de 18 años
5. Pacientes que aceptaron participar en el estudio y firmaron el consentimiento informado.
6. Se excluyeron los pacientes que recibieron tratamiento antimicótico tópico (1mes antes) y sistémico (3 meses antes de la inclusión al estudio) previo.

El tamaño de la muestra se calculó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$n=Z^2 pq/d^2$$

Z = 1.96 (Considerando que la población estudiada tiene una distribución normal)

P= .30 (Considerando que las onicomycosis constituyen el 30% de micosis superficiales)

Q= .70 (Es el complemento de P)

D= precisión 10%

Sustituyendo los datos en la fórmula se obtuvo de la siguiente manera:

$$\frac{(1.96)^2(0.3)(0.7)}{(0.1)^2} = 0.806/0.01 = 80.6$$

Resultando una n: 81 pacientes

Definición de la variables a evaluar y forma de medirlas:

NOMBRE DE VARIABLE	TIPO DE VARIABLE Y ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDICION	DEFINICIÓN OPERACIONAL
Candidosis ungueal	Cualitativa nominal	0=no 1=si	Presencia de onicopatía
Especies aislados	Cualitativa nominal	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. Guillermondi</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. Krusei</i>	Especies de <i>Candida</i> aisladas en el estudio <i>in vitro</i>
Sensibilidad in vitro	Cualitativa nominal	Sensible (1) Rosa-Rosa Intermedia (2) Rosa-Azul Resistente (3) Azul-Azul	La prueba considera la susceptibilidad a los siguientes 6 antimicóticos anfotericina B (2 y 4 µg/ml); 5-fluorocitosina (2 y 32 µg/ml); miconazol (0.5 y 8 µg/ml); fluconazol (8 y 64 µg/ml); itraconazol y ketoconazol (0.5 y 4 µg/ml)

Variables Secundarias

NOMBRE DE VARIABLE	TIPO DE VARIABLE Y ESCALA DE MEDICIÓN	UNIDAD DE MEDICIÓN	DEFINICIÓN OPERACIONAL
Edad	Cuantitativa continúa	Años	Años cumplidos al momento del estudio
Sexo	Cualitativa nominal	1. Mujer 2. Hombre	Fenotipo del paciente al momento del estudio
Tiempo de trasplantado	Cuantitativa continúa	Meses	Periodo comprendido entre el trasplante y la inclusión al estudio.
Tratamiento previo	Cualitativa nominal	1. Diálisis	Recibió diálisis o hemodiálisis previo a

		2. Hemodiálisis	trasplante
Enfermedades asociadas	Cualitativa nominal	1. Cardiovasculares 2. Metabólicas 3. Otras	Enfermedades concomitantes en el paciente
Tipo de onicopatía	Cualitativa nominal	1. Perionixis 2. Onicolisis 3. Distrófica total	Datos clínicos encontrados en la lámina ungueal
Localización de onicopatía	Cualitativa nominal	1. Manos 2. Pies	Topografía de las uñas afectadas
Tiempo de evolución de candidosis	Cuantitativa	Meses	Tiempo transcurrido desde la aparición de cambios ungueales y fecha de trasplante

Procedimiento:

Se revisó a los pacientes en la consulta externa del Servicio de Trasplantes.

1. Se llenó la hoja de datos (véase Anexo 1).
2. La onicomycosis se clasificó clínicamente de acuerdo a la exploración física en perionixis, onicolisis y distrofia ungueal.
3. Se realizó examen directo mediante raspado con cureta, del primero y quinto dedos de pies y en pulgar de manos, se recolectó el polvo y los fragmentos de las uñas.
4. A la muestra se le agregó una o dos gotas de KOH al 20%
5. Se examinó directamente con el microscopio y se observó la muestra con diferentes aumentos para determinar blastoconidias, pseudohifas con blastoconidias, pseudohifas sin blastoconidias y casos negativos.
6. Se determinó la especie mediante cultivos en medios de agar dextrosa de Sabouraud (ADS) y ADS con antibióticos, de acuerdo a características fisiológicas y bioquímicas de la muestra, se identificaron las levaduras mediante filamentación en suero humano (2-3 h a 37°C), si presentaron formación de clamidoconidias en medio de harina de maíz con Tween 80 al 1%, y también se utilizaron medios cromogénicos, así como pruebas de perfil

bioquímico (API-yeast 20) para confirmación de la especie. Mediante auxanograma calorimétrico que es una prueba colorimétrica de asimilación de azúcares para la identificación de levaduras, se confirmó la especie aislada.

7. De acuerdo al resultado del estudio micológico se determinó la presencia de candidosis ungueal y la localización de ésta en manos o pies.
8. La sensibilidad *in vitro* de la especie aislada se determinó mediante el método comercial calorimétrico Fungitest, el cual se llevó a cabo en una microplaca de 16 pocillos, 2 pocillos fueron para el control del crecimiento y 12 pocillos contenían los agentes antimicóticos deshidratados. (6 agentes antimicóticos a 2 concentraciones diferentes Anfotericina B (2 y 8 µg/ml); 5-Fluorocitosina (2 y 32 µg/ml); Miconazol (0.5 y 8 µg/ml); Fluconazol (8 y 64 µg/ml); Itraconazol y Ketoconazol (0.5 y 4 µg/ml)), 2 pocillos para el control negativo. El inóculo de la cepa que se aisló, se diluyó en un “medio suspensión”, se distribuyó en cada uno de los pocillos de la microplaca.
9. De acuerdo a las concentraciones antimicóticas que presentó la cepa, se clasificó en sensibles (S), intermedias (I) y resistentes (R). Para la preparación de la suspensión de hongos se utilizó una pipeta para tomar 2 colonias similares de un cultivo puro y fresco el cual se obtuvo en un medio de ADS o ADS con antibióticos, se introdujeron en 3 ml de agua destilada estéril para obtener un primer inóculo calibrado con un equivalente de opacidad con el estándar Mac Farland No 1, con una pipeta calibrada se diluyeron 100 µl de este inóculo en 1.9ml de agua destilada esterilizada y se inocularon 20 µl de la dilución obtenida en el medio de suspensión incluido en el estuche. La inoculación de la microplaca se realizó con una pipeta calibrada, se distribuyeron 100 µl de esta suspensión en cada pocillo de la microplaca y se cubrieron con la película adhesiva. Se incubaron a 37 ° C durante 48 horas. Sólo se examinaron la placas cuando los pocillos del control fueron positivos (T+) dando un color rosa. Se interpretaron de acuerdo con el color de los 2 pocillos de cada agente antimicótico: azul-azul = ausencia de crecimiento: cepa inhibida por el agente antimicótico *in vitro*, rosa-azul= crecimiento lento: cepa

intermedia, rosa-Rosa= crecimiento: cepa no inhibida por el agente antimicótico *in vitro*.

Análisis estadístico:

Se mostraron los resultados mediante la descripción de las variables mencionadas, de las variables cuantitativas se obtuvo el promedio y la desviación estándar, a las variables cualitativas se les calculó el porcentaje de los resultados. Se realizaron los gráficos correspondientes. Se utilizó el programa Excel. Para comparar variables cuantitativas y cualitativas entre los trasplantados y los pacientes con micosis y trasplante se ocuparon pruebas t o chi cuadrada respectivamente. El programa utilizado fue el paquete estadístico SPSS versión 17.

Aspectos éticos y de bioseguridad:

Se garantizó la autonomía del paciente solicitando la firma en una carta de consentimiento, así como la confidencialidad de los datos obtenidos y su derecho a no participar en el estudio sin que esto influyera en la calidad de su atención.

Relevancia y expectativas

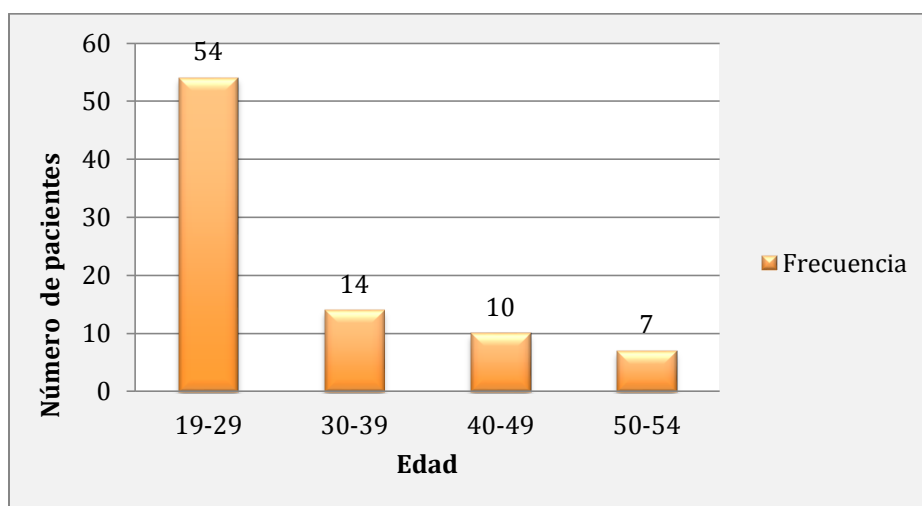
Con el siguiente estudio los autores esperaron conocer el comportamiento de la candidosis ungueal en pacientes con trasplante renal, ya que estos pacientes pueden tener mayor riesgo de contraer una infección por este hongo oportunista evolucionar a una candidosis invasiva lo que incrementaría su mortalidad, por lo cual es importante identificar la especie y conocer la sensibilidad *in vitro* que tienen a los principales antimicóticos para brindar un tratamiento oportuno y dirigido y de esta manera prevenir una fungemia.

Recursos

Los recursos para el material de obtención de la muestra de examen directo como hoja de bisturí, los medios de cultivo, prueba de fungitest, papelería necesaria para la recolección de datos fueron financiados por el servicio de micología.

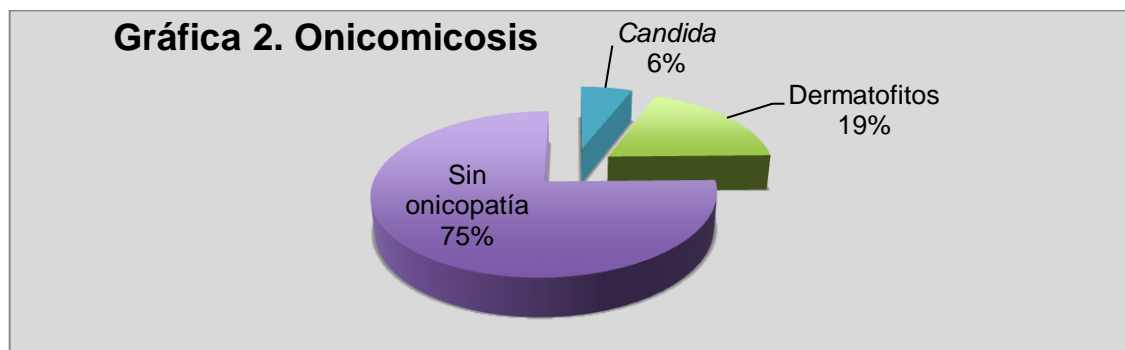
PARTE III. RESULTADOS

Durante el periodo de estudio se incluyeron 85 pacientes (37 mujeres, 44% y 48 hombres, 56%), con un rango de edad de 19 a 54 años (media 30.5 ± 9.77 años) (ver gráfica 1), 84 recibieron órgano de un donador vivo relacionado y 1 de donador cadáver.



Gráfica 1. Se muestra la edad de los pacientes con trasplante renal dividido en grupos de edad.

De la población estudiada sólo 5 pacientes (6%) presentaron candidosis ungueal, 16 pacientes (18.8%) presentó infección por dermatofitos y de éstos sólo en 6 pacientes se aisló en el cultivo *T. rubrum* (Ver gráfica 2)



Gráfica 2. Presencia de candidosis ungueal en pacientes trasplantados

Tabla 4. Al comparar la edad de los pacientes trasplantados contra los que presentaron candidosis ungueal, no se observan diferencias significativas $p > 0.05$. La edad no constituyó un riesgo para el desarrollo de candidosis ungueal.

	Edad (años)	
	Promedio	DE
Trasplantados	30.5	9.77
Trasplantados con candidosis	31	13.34

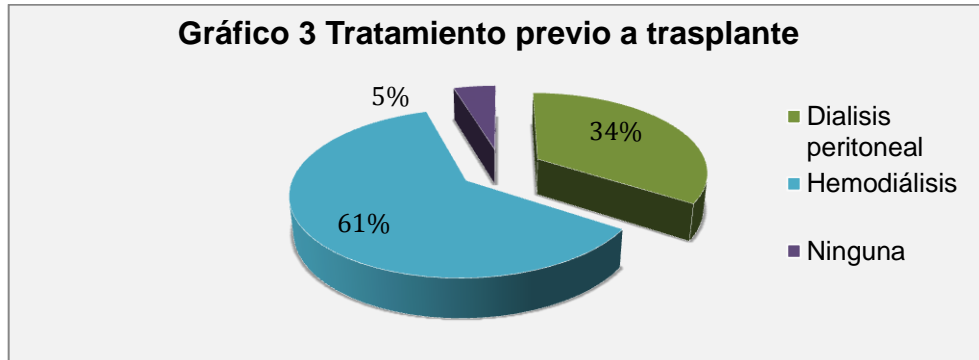
Tabla 5. No se encontraron diferencias relevantes en cuanto al sexo y la presencia de candidosis ungueal, $p > 0.05$, por lo cual la edad no influyó como factor predisponente para candidosis ungueal.

	Sexo		Total
	Mujeres	Hombres	
Trasplantados	36 (45%)	44(55%)	80(100%)
Trasplantados con candidosis	1(20%)	4(80%)	5(100%)

Tabla 6. Tiempo de trasplante renal en meses entre la población con y sin candidosis ungueal. $p > 0.05$. El periodo entre la realización del trasplante y la exploración física se midió en meses, observando que no influyó este periodo como factor predisponente de candidosis ungueal.

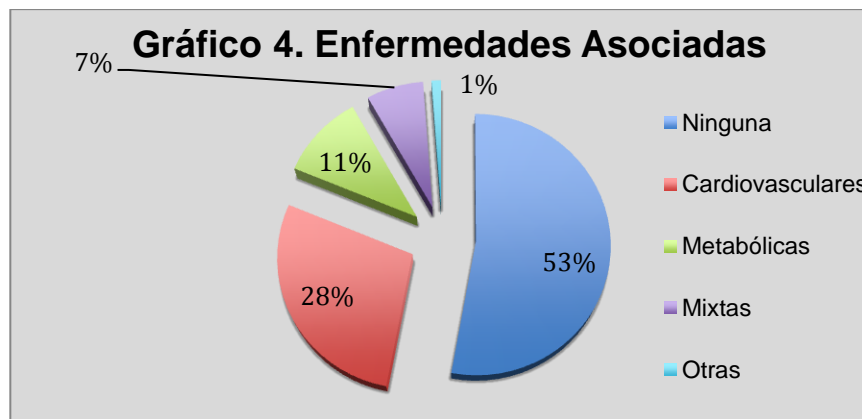
	Tiempo de trasplante (meses)	
	Promedio	DE
Trasplantados	15.2	11.1
Trasplantados con candidosis	19.4	31.1

El 61% (52 pacientes) de los pacientes recibió tratamiento previo con hemodiálisis antes del trasplante, el 34% (29 pacientes) diálisis peritoneal y el 5% (4 pacientes) no recibió ningún tratamiento dialítico previo. (Gráfica 3)



Gráfica 3. Pacientes con diálisis peritoneal, hemodiálisis sin tratamiento previo al trasplante

Las principales enfermedades que refirieron los pacientes con trasplante renal fueron las siguientes: un 53% (45 pacientes) negó enfermedades asociadas, el 28% (24 pacientes) refirió padecer hipertensión arterial sistémica, el 11% (9 pacientes) enfermedades metabólicas como diabetes mellitus tipo 2, hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, hipotiroidismo, el 7% (6 pacientes) enfermedad mixta (cardiovascular y metabólica), se encontró un paciente con síndrome de Alport (1%). (Gráfica 4).



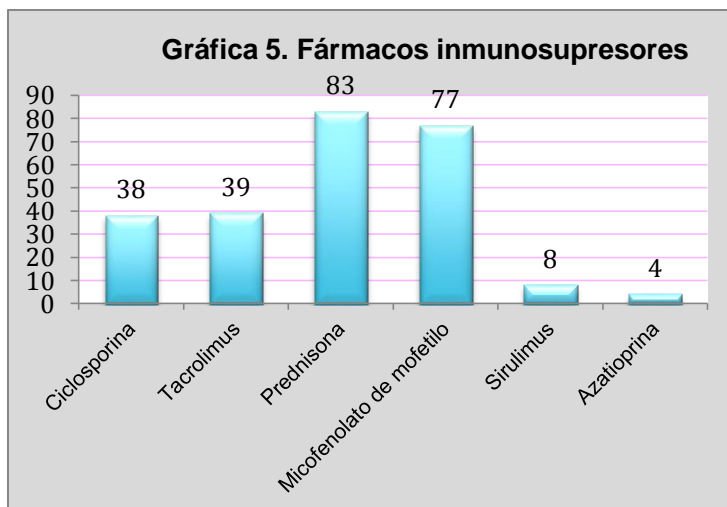
Gráfica 4. Distribución de enfermedades asociadas en pacientes trasplantados

Los 5 pacientes con candidosis ungueal recibieron hemodiálisis previo al trasplante, las principales enfermedades que presentaron fueron cardiovasculares (HAS) en 2 de ellos y el resto negó alguna enfermedad. (Tabla 7). Observamos que comparado con los pacientes trasplantados, no influyeron las enfermedades asociadas ni el tipo de tratamiento previo (diálisis/hemodiálisis) como factor predisponente para candidosis ungueal.

PACIENTE	TRATAMIENTO PREVIO A TRASPLANTE DIÁLISIS/HEMODIÁLISIS	ENFERMEDADES CONCOMITANTES
1	Hemodiálisis	Negados
2	Hemodiálisis	Negados
3	Hemodiálisis	Negados
4	Hemodiálisis	HAS
5	Hemodiálisis	HAS

Tabla 7. Muestra los 5 pacientes con candidosis ungueal y el tratamiento que recibieron previo al trasplante así como las enfermedades concomitantes.

Los principales fármacos inmunosupresores con los que se encontraban los pacientes eran prednisona, micofenolato, tacrolimus, ciclosporina, sirolimus y azatioprina, otros medicamentos eran enalapril, bezafibrato, pravastatina, trimetoprim con sulfametoxazol, aciclovir, furosemida, omeprazol, alopurinol. El fármaco inmunosopresor con el que se encontraba la mayoría de los pacientes fue la prednisona (87 pacientes), seguido del micofenolato de mofetilo (77 pacientes) y el menos utilizado fue la azatioprina (1 paciente) (Gráfica 5). El 97% (82 pacientes), se encontraba con 3 fármacos inmunosupresores, el 2% (2 pacientes) sólo tenía 2 fármacos y sólo un paciente se encontraba con 5 fármacos inmunosupresores. Los 5 pacientes que presentaron onicopatía tenían al menos 3 medicamentos inmunosupresores. Los fármacos inmunosupresores no fueron un factor de riesgo para candidosis ungueal ya que la mayoría el 97% de la población se encontraba con 3 fármacos inmunosupresores. (Gráfica 6)



Gráfica 5. Fármacos inmunosupresores en pacientes trasplantados

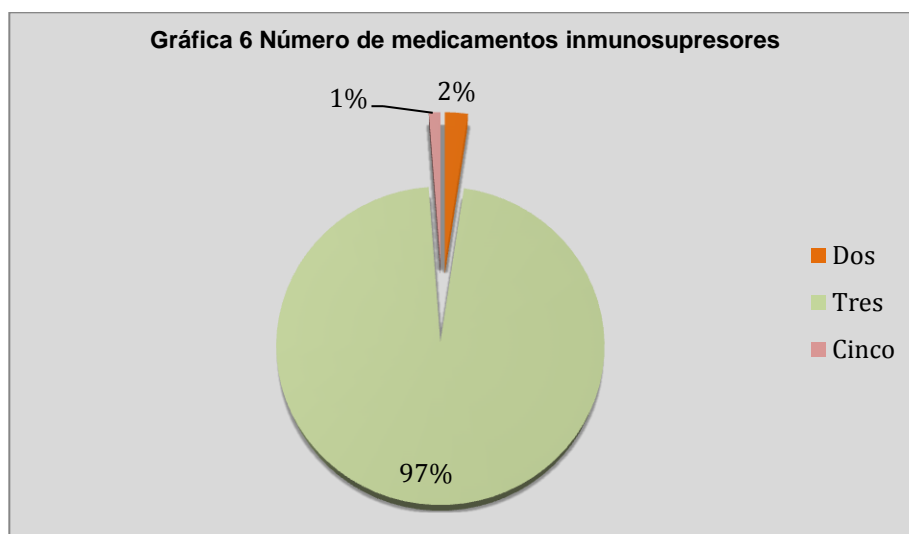


Gráfico 6. Número de fármacos inmunosupresores en pacientes trasplantados

El resultado del examen directo en los pacientes con candidosis ungueal, 2 de ellos presentaron filamentos, uno presentó artrosporas y dos fueron negativos, sin embargo el cultivo fue positivo en los cinco pacientes, identificando la especie patógena.

Tres de los cultivos presentaron crecimiento de *C parapsilosis* conformación de colonias satélites como arañas en puntos alejados de la estría que dan como resultado un aspecto arborescente, presencia de pseudomicelio fino y grueso, blastoconidios a lo largo del micelio. En el medio de cultivo CHROMagar se

observaron colonias blanco-crema mucoide. Un cultivo presentó crecimiento de *C. glabrata* con blastoconidios o pequeñas células estéricas muy compactas sin pseudohifas, en el medio CHROMagar se observaron las colonias rosa, brillante y otro cultivo mediante la prueba de auxonograma se aisló *C. guilliermondii* (ver tabla 8).

PACIENTE	EXAMEN DIRECTO	CULTIVO
1	Negativo	<i>C. parapsilosis</i>
2	Filamentos	<i>C. parapsilosis</i>
3	Artrosporas	<i>C. guilliermondii</i>
4	Filamentos	<i>C. glabrata</i>
5	Negativo	<i>C. parapsilosis</i>

Tabla 8. Resultados de examen directo y cultivo en pacientes con candidosis ungueal.

Dentro de la exploración física las características clínicas que se observaron fueron las siguientes: el primer paciente presentó afección distal del plato ungueal, con pulverización, en pie derecho (1er uña), los cambios ungueales iniciaron 3 años previos a la exploración, antes de la realización del trasplante renal ya presentaba los cambios ungueales. (Fig. 1). El segundo paciente presentó afección en mano/pie derecho, en la mano presentaba afección lateral del plato ungueal (1ª uña), con pulverización y distrofia, en pie se observaba distrofia total (3 primeras uñas), los cambios ungueales se presentaron 3 meses previos a su revisión, posterior a la realización del trasplante (Fig. 2). El tercer paciente presentó onicolisis pie derecho (1er uña) con líneas de Beau los cambios ungueales se presentaron 2 años previos a la exploración posterior a la realización del trasplante (Fig. 3). El cuarto paciente presentó onicolisis en pie izquierdo (1er uña), los cambios ungueales iniciaron un año previo a la exploración, posterior a la realización del trasplante (Fig. 4). El quinto paciente presentó paquioniquia, xantoniquia en pie derecho (1er uña), que iniciaron 3 años previos a la exploración, posterior a la realización del trasplante renal (Fig. 5). (ver tabla 9).

Cuatro pacientes presentaron los cambios ungueales posterior a la realización del trasplante.

PACIENTE	TIPO DE ONICOPATÍA	LOCALIZACIÓN	TIEMPO DE EVOLUCIÓN
1	Distal	Pie derecho	3 años
2	Distrófica	Mano y pie derecho	3 meses
3	Onicolisis	Pie derecho	2 años
4	Onicolisis	Pie izquierdo	1 año
5	Paquioniquia/xantoniquia	Pie derecho	3años

Tabla 9 Topografía, tipo de onicopatía y tiempo de evolución en pacientes con candidosis.



Figura 1. Paciente 1 con afección distal del plato ungueal con pulverización



Figura 2. Paciente 2 presenta afección en primeras uñas de pie y mano derecha



Figura 3 . Paciente 3 presenta onicolisis con líneas de Beau en pie derecho (1er uña)



Figura 4. Paciente 4 presenta onicolisis en pie izquierdo (1er uña)



Figura 5. Paciente 5 presenta paquioniquia, xantoniquia en pie derecho (1er uña)

La sensibilidad *in vitro* mediante la prueba de fungitest se obtuvo de acuerdo a dos concentraciones de los diferentes antimicóticos. Los resultados que presentaron fueron los siguientes: El paciente 1, en el que se aisló en el cultivo *C. parapsilosis* presentó sensibilidad a anfotericina B, presentó resistencia a concentraciones bajas de 5-fluorocitosina, miconazol, ketoconazol, itraconazol y fluconazol, fue sensible a altas concentraciones a 5-fluorocitosina, y sensibilidad dosis-

dependiente a itraconazol y fluconazol, el paciente 2 en el que se aisló en el cultivo *C. parapsilosis* fue sensible a las dos concentraciones a 5-fluorocitosina y anfotericina B, sensible a altas concentraciones a miconazol, ketoconazol, fluconazol e itraconazol, con resistencia a bajas concentraciones a miconazol e itraconazol. El paciente 3 en el que se aisló *C. guilliermondii* fue sensible a 5-fluorocitosina y anfotericina B, sensible a altas concentraciones a miconazol, ketoconazol, itraconazol y fluconazol, resistente a bajas concentraciones a miconazol e itraconazol. En el paciente 4 en el que se aisló en el cultivo *C. glabrata* presentó sensibilidad a bajas y altas concentraciones a 5-fluorocitosina, anfotericina B, miconazol, ketoconazol y fluconazol con resistencia a itraconazol a bajas concentraciones y sensibilidad a altas concentraciones. El paciente 5 en el que se aisló *C. parapsilosis* presentó sensibilidad a bajas y altas concentraciones a 5 fluorocitosina, anfotericina B, ketoconazol, itraconazol y fluconazol con resistencia a bajas concentraciones a miconazol. (ver Tabla 10)

RESULTADO DE SENSIBILIDAD MEDIANTE FUNGITEST

RESULTADO DEL CULTIVO A LAS 48 HORAS A 37°

Especie de <i>Candida</i>	T+	5FC	AB	MCZ	KET	ITRA	FLU	T-
<i>C. parapsilosis</i>	+	RS	SS	RR	RR	RI	RI	-
<i>C. parapsilosis</i>	+	SS	SS	RS	SS	RS	SS	-
<i>C. guilliermondii</i>	+	SS	SS	RS	IS	RS	IS	-
<i>C. glabrata</i>	+	SS	SS	SS	SS	RS	SS	-
<i>C. parapsilosis</i>	+	SS	SS	RS	SS	SS	SS	-

Tabla 10 resultados de sensibilidad in vitro a los diferentes antimicóticos. Ausencia de crecimiento: Azul-Azul = T- control negativo. Crecimiento lento: cepa intermedia: Rosa-Azul. Cepa no inhibida: Rosa-Rosa = T+ control positivo. Cepas sensibles: S. Cepas intermedias: I. Cepas resistentes: R

5FC: 5 fluorocitosina. AB: anfotericina. MCZ: miconazol. KET: ketoconazol. ITR: itraconazol. FLU: fluconazol

PARTE IV. DISCUSIÓN

La onicomicosis es la enfermedad más frecuente del aparato ungueal constituyendo el 50% de estas entidades y el 30% de las micosis superficiales. La mayoría de las onicomicosis son producidas por dermatofitos particularmente *T. rubrum* y *T. mentagrophytes* var. *interdigitale*, éstos causan el 90% de las infecciones ungueales en pies y un 50% en manos (51), seguidos de especies de *Candida* en el 1.7% en uñas de pies a 29.2% en uñas de manos (5) y por hongos mohos; esta enfermedad puede llegar a afectar la calidad de vida de los pacientes y en pacientes inmunosuprimidos puede ser una vía de entrada para producir infecciones en tejidos blandos y provocar fungemias llegando a ser mortal en estos pacientes.

En nuestro estudio similar a lo que se reporta en la literatura en población inmunocompetente, predominaron las infecciones por dermatofitos en un 18.8% de la población estudiada sobre *Candida* que sólo se encontró en el 5% de los pacientes. El agente que se aisló en seis cultivos en nuestro estudio fue *T. rubrum*.

En algunos reportes en diferentes regiones predominan las infecciones ungueales por *Candida* sobre dermatofitos sobre todo en climas subtropicales como Brasil, donde se reporta una prevalencia del 56.8-80.6% (1,52), en algunas poblaciones de Irán también se muestra este predominio, un ejemplo es un estudio realizado en la provincia de Kermanshah en el que analizaron 100 pacientes con sospecha de onicomicosis, de los cuales el 35% de los pacientes presentaron infección por *Candida* en los cultivos (53), otro fue hecho en Tehrán en 504 pacientes con un 59.7% de la población afectada por levaduras seguida de dermatofitos los cuales constituyeron el 21.3% de los reportes (54). En climas templados como en la ciudad de México predomina la infección por dermatofitos.

Existen escasos estudios en la literatura que evalúen la prevalencia de candidosis ungueal en pacientes trasplantados, la mayoría de estudios se ha realizado en

pacientes inmunocompetentes, diabéticos o con VIH reportando una prevalencia entre el 2-56%. La prevalencia encontrada en este estudio fue del 6% coincidente con otro estudio que se realizó en el Hospital Central Militar en 94 pacientes trasplantados en el que reportan una prevalencia del 5.3% no variando en gran medida a comparación con nuestro estudio (55). En otro estudio que se realizó en 102 pacientes trasplantados de riñón reportan menor prevalencia, ya que sólo 3 pacientes presentaron candidosis ungueal siendo ésta del 2.6% (56) . Comparado con los pacientes diabéticos Abad-González y cols., reportan una prevalencia de 31.84% y otros estudios entre el 2.8 y 31%, siendo mayor ya que esta población presenta además algunos factores asociados como enfermedad vascular periférica, neuropatía y descontrol metabólico los cuales contribuyen al desarrollo de candidosis ungueal (7).

Algunos estudios mencionan que la prevalencia aumenta con la duración de la hemodiálisis; en nuestra población estudiada, los 5 pacientes con candidosis recibieron tratamiento con hemodiálisis previo al trasplante, sin embargo Kuvandik *et al.* realizaron un estudio en pacientes con insuficiencia renal en tratamiento con hemodiálisis sin encontrar relación entre el tiempo de duración de la hemodiálisis y el desarrollo de onicomicosis (57), por lo cual no consideramos que la hemodiálisis sea un factor predisponente en nuestra población ya que el resto de pacientes trasplantados (96%) también recibió este tratamiento y no presentaron candidosis ungueal.

Dentro de los factores asociados a candidosis ungueal se encuentran los defectos o alteraciones en la inmunidad como síndrome de DiGeorge, agammaglobulinemia, displasia del timo, enfermedades sistémicas como diabetes, enfermedad vascular periférica, uso de antibióticos de amplio espectro, la exposición crónica a humedad y químicos como detergentes, trauma local. En pacientes trasplantados debido al uso de medicamentos inmunosupresores se esperaría una prevalencia mayor a la reportada en pacientes inmunocompetentes, sin embargo en este estudio no se observó que el uso de fármacos

inmunosupresores constituyera un factor de riesgo para candidosis ungueal, ni tampoco el número de fármacos inmunosopresores ya que el 89.4% (76 pacientes) tenía 3 fármacos inmunosupresores y no presentaron candidosis ungueal.

Candida puede ser patógeno primario o secundario, como patógeno primario se observa principalmente en pacientes con severa inmunosupresión como en pacientes con VIH o candidosis mucocutánea crónica, mientras que como secundario la invasión por *Candida* ocurre en casos de desnutrición, enfermedad vascular periférica (14).

El grupo de edad más afectado oscila entre los 40-60 años, en nuestro estudio los 5 pacientes con candidosis se encontraban en un rango de edad entre los 20-29 años sólo uno de ellos fue de 54 años, presentándose a menor edad de la reportada en población inmunocompetente.

La topografía más frecuente en candidosis es en manos, siendo el género femenino más afectado debido a la ocupación, ya que la mayoría son amas de casa que realizan actividades que favorecen la humedad. En nuestro estudio el género más afectado fue el masculino, observándose en 4 pacientes, siendo mayor en uñas de los pies y sólo un caso en mano y pie derecho se observó en el género femenino, la localización en mano pudo estar favorecida por que la paciente es ama de casa y está en mayor contacto con humedad comparada con los otros 4 pacientes que no realizan estas actividades; este predominio en uñas de los pies ya se ha observado en algunos estudios, tal es el caso de Ataidés *et al.* quienes en un estudio realizado en 114 pacientes, encontraron que 95 presentaban onicomiosis, siendo el 56.8% causadas por levaduras, localizándose en el 40.2% en uñas de los pies versus un 16.7% en manos (1), la localización en los pies está favorecido por el trauma y al uso de calzado cerrado y sintético.

En este estudio las especies que se aislaron mediante cultivo fueron por *C. parapsilosis* (en 3 pacientes), *C. guilliermondii* (1 paciente) y *C. glabrata* (1

paciente) a diferencia de lo que se reporta en la literatura en la que *C. albicans* es la principal especie patógena seguida de *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, en nuestra población no se observó este predominio, sin embargo si fue por otras especies ya reportadas en candidosis ungueal como factores etiológicos, en recientes estudios reportan un incremento de *C. parapsilosis* sobre *C. albicans* así como de *C. guilliermondii* y *C. tropicalis* (16), Manzano-Gayosso *et al* realizaron en 4 centros de atención dermatomicológicos de la ciudad de México un estudio en el que *C. parapsilosis* se encontró en el 31.9% de los pacientes, seguida de *C. albicans* en un 22.4% (10), Segal y col en un estudio retrospectivo realizado en Israel en 2 centros diferentes encontraron a *C. parapsilosis* con mayor prevalencia comparado con otras especies de *Candida* en uñas de manos y pies (58), en países como la India también se muestra este predominio de *C. parapsilosis* en manos y pies, al igual que en Bélgica en uñas de los pies (52), en Alemania en un estudio retrospectivo de 5077 muestras de uñas, el 29% presentó infección por levaduras y de éstas el 42% fue causada por *C. parapsilosis*, seguida de *C. guilliermondii* en el 20.1% y en tercer lugar *C. albicans* en el 14.2% (59). Segal *et al* menciona que cuando la localización es en manos el principal agente causal es *C. albicans* y en pies es más frecuente por *C. parapsilosis*, este autor también refiere que el tipo de onicopatía que predomina con *C. albicans* es la paroniquia (60) y en los casos de *C. parapsilosis* se observa afección distal de la uña. La prevalencia *C. guilliermondii* como agente causal en onicomycosis varía del 2.9-12.7% (24,61) la importancia de este agente es que se ha reportado implicada en osteomielitis, pericarditis y fungemia (48), *C. glabrata* como agente causal de onicomycosis es una especie poco frecuente, en un estudio realizado en Turquía (62), fue la tercera causa de candidosis ungueal, Abad-González y col., la reportan en cuarto lugar en pacientes diabéticos, con lo que observamos que es una especie no frecuente como agente etiológico de candidosis ungueal.

Las principales formas clínicas de candidosis ungueal son paroniquia, onicolisis y la forma distrófica total; en nuestro estudio las formas clínicas observadas fue onicolisis en dos pacientes, la forma distrófica total se observó en un paciente,

estos 3 pacientes además presentaban infección mixta con dermatofitos, Los otros dos pacientes presentaron otras características de la candidosis ungueal como es la pigmentación de la lámina que algunas veces puede aparecer con paroniquia y coloración blanca amarillenta, la cual se observó en uno de los pacientes y en el otro paciente se observó afección distal del plato ungueal con pulverización, en estos dos pacientes la infección sólo fue por *Candida*, a diferencia de los otros 3 pacientes éstos no mostraron las formas clínicas más frecuentes.

El diagnóstico se realiza mediante examen directo, el cual sólo sirve para saber si hay presencia o no de hongo, sin embargo existe la posibilidad de dar falsos negativos en un 5-15% (2) de las muestras, Nazar *et al* mencionan que el examen directo negativo se presenta con mayor frecuencia en onicomicosis por *Candida* que en aquellas causadas por dermatofitos o mohos, explican que esto pueda deberse a una baja concentración de *Candida*, a la ubicación de las levaduras en sólo ciertas áreas de la muestra ungueal o a la colonización de la placa ungueal (63); en nuestro estudio los exámenes directos fueron negativos en dos pacientes y dos pacientes mostraron filamentos y uno artrosporas compatible con una infección mixta por dermatofitos, es por eso que se recomienda siempre realizar cultivo para descartar infecciones mixtas, además de que el cultivo es el único puede identificar el agente causal (2). Algunos autores como Manzano y cols., mencionan que en el aislamiento de levaduras es importante realizar una clasificación taxonómica completa y distinguir entre invasión y colonización.

La terapéutica con antifúngicos en ocasiones puede ser un problema, ya que algunas especies presentan resistencia adquirida o intrínseca y cada vez surgen nuevas especies patógenas, por lo que la identificación de las levaduras causantes y la sensibilidad *in vitro* constituye una herramienta muy importante para el adecuado tratamiento.

Los métodos de sensibilidad *in vitro* son útiles para predecir si determinado antifúngico tiene la habilidad para erradicar a determinado hongo y detectar la

resistencia de éste.

El fungitest comparado con el método de referencia el documento M27-A, tiene una concordancia con éste del 100% para anfotericina B, del 95% para 5-fluorocitosina, 84% para miconazol, 83% para itraconazol, 77% para ketoconazol y 76% para fluconazol (49). En este estudio las 3 cepas de *C. parapsilosis* mostraron sensibilidad a anfotericina B, 2/3 cepas fueron sensibles a 5 fluorocitosina a altas y bajas concentraciones, la otra sólo fue sensible a alta concentración, a los compuestos azólicos, 2/3 cepas mostraron ser resistentes a concentraciones bajas itraconazol, 2/3 fueron sensibles a concentraciones altas y 1/3 fue sensible dosis-dependiente; a fluconazol 2/3 fueron sensibles a bajas y altas concentraciones, 1/3 presentó sensibilidad dosis-dependiente, esta divergencia respecto de *C. parapsilosis* a los diferentes antimicóticos pueda deberse a que *C. parapsilosis* representa un complejo el cual está compuesto por 3 especies las cuales son *C. parapsilosis* en *sensu stricto*, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*, pudiendo esto influir en su patrón de sensibilidad; *C. glabrata* y *C. guilliermondii* presentó sensibilidad para 5 fluorocitosina y anfotericina, fueron resistentes a bajas concentraciones de itraconazol y sensibles a altas concentraciones a itraconazol y fluconazol.

En general observamos que a bajas concentraciones de itraconazol presentan tanto *C. glabrata*, *C. guilliermondii* como *C. parapsilosis* resistencia, esto quizá ocasionado al uso profiláctico del itraconazol, por lo cual se tienen que usar dosis más altas para obtener resultados. De acuerdo a la literatura en la que se menciona la resistencia intrínseca de *C. glabrata* a itraconazol, en nuestro estudio fue sensible en un 100% a concentraciones de altas de 4 µg/ml, también se reporta resistencia a fluconazol (45,48), en nuestro estudio fue sensible a bajas y altas concentraciones, los mecanismos de resistencia se atribuyen a una sobrerregulación a diversos transportadores como CgCDR1 y CgCDR2 así como a SNQ2, también se ha visto una mutación o sobreexpresión del gen ERG11, el cual también está implicado en la resistencia que muestran otras especies como *C.*

krusei y *C. albicans* a fluconazol (64). En otros estudios refieren que *C. glabrata* presenta susceptibilidad dosis-dependiente a los diversos azólicos (61), lo cual coincide con nuestro estudio en que a altas concentraciones de itraconazol y fluconazol mostraron sensibilidad.

PARTE V. CONCLUSIONES

- La onicomicosis en pacientes trasplantados de riñón no mostró mayor prevalencia de candidosis ungueal comparado con la población inmunocompetente.
- Los dermatofitos fueron los principales agentes etiológicos de onicomicosis al igual que en la población general.
- El uso de fármacos inmunosupresores, enfermedades asociadas y el tratamiento dialítico previo al trasplante no constituyeron un riesgo para el desarrollo de candidosis ungueal en esta población.
- La especie que más se aislaron en este estudio fue *C. parapsilosis*, seguido de *C. guilliermondii* y *C. glabrata* a diferencia de lo que reporta la literatura en donde *C. albicans* es el principal agente etiológico, sin embargo estas especies están implicadas en candidosis ungueal.
- Las características clínicas son importantes para el diagnóstico sin embargo no siempre son sugestivas de candidosis ungueal por lo cual ante la sospecha clínica es importante realizar examen directo y cultivo para identificar la especie, ya que se pueden presentar infecciones mixtas, que pueden complicar el tratamiento y la respuesta terapéutica.
- Los métodos comerciales para sensibilidad *in vitro* son una herramienta útil, accesible y rápida que permiten implementar una terapéutica eficaz y dirigida a determinada especie.

REFERENCIAS.

1. Ataides FS, Chaul MH, Essal FE *et al.* Antifungal susceptibility patterns of yeasts and filamentous fungi isolated from nail infection. *J Eur Acad Dermatol Venereol* 2012; 26: 1479-85
2. Kaur R, Kashyap B, Bhalla P. Onychomycosis, epidemiology, diagnosis and management. *Ind J Med Microbiol* 2008; 26: 108-16
3. Mendoza N, Palacios C, Cardona N, *et al.* Onicomicosis: afección común de difícil tratamiento. *Rev Asoc Colomb Dermatol* 2012; 20: 149-58
4. Trofa D, Gácsér A, Nosanchuk JD. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clin Microbiol Rev* 2008; 21: 606-25
5. Warshaw, E. M., Nelson, D., Carver, S. *et al.* A pilot evaluation of pulse itraconazole vs. terbinafine for treatment of *Candida* toenail onychomycosis. *Int J Dermatol* 2005; 44: 785-8.
6. Tchernev G, Penev P, Nenoff P *et al.* Onychomycosis: modern diagnostic and treatment approaches. *Wien Med Wochenschr* 2013; 163: 1-12
7. Abad-González J, Bonifaz A, Ponce R. Onicomicosis por *Candida* asociada con diabetes mellitus *Dermatología Rev Mex* 2007; 51: 135-41
8. Martínez E, Eslava-García J, Gaitán-Calvo M. Candidiasis cutánea: utilidad del CHROMagar *Candida* en la identificación de especies. *Dermatología Rev Mex* 2008; 52: 121-6
9. Jayatilake J, Tilakaratne W, Panagoda G. *Candida* onychomycosis: a mini-review. *Mycopathol* 2009; 168: 165-73
10. Manzano-Gayosso P, Méndez-Tovar L, Arenas R. Levaduras causantes de onicomicosis en cuatro centros dermatológicos mexicanos y su sensibilidad antifúngica a compuestos azólicos. *Rev Iberoam Micol* 2011; 28: 32-5
11. Ha J, Italiano C, Heath C. Candidemia and invasive candidiasis: A review of the literature for the burns surgeon. *Burns* 2011; 37: 181-95
12. Pemána J, Salavert M. Epidemiología general de la enfermedad fúngica invasora. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2012; 30: 90-8
13. Smythe A, Asbati M, Díaz Y *et al.* *Candida* como agente causal de

- onicomicosis en pies. *Dermatol Venezolana* 2004; 42: 25-9
14. Singal A, Khanna D. Onychomycosis: Diagnosis and management. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* 2011; 77: 659-72
 15. Carrillo-Muñoz, A, Tur-Tur C, Hernández-Molina P. Antifúngicos disponibles para el tratamiento de las micosis ungueales. *Rev Iberoam Micol* 2010; 27: 49–56
 16. Bueno JG, Martínez C, Zapata B, *et al.* In vitro activity of fluconazole, itraconazole, voriconazole and terbinafine against fungi causing onychomycosis. *Clin Exp Dermatol* 2010; 6: 658-63
 17. Larruskain J, Idígoras P, Mendiola J. *et al.* Onicomicosis: diagnóstico y tratamiento. *Inf Ter Sist Nac Salud* 2008; 32: 83-92
 18. Elewski B. Onychomycosis: Pathogenesis, diagnosis, and management. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 415-29
 19. Hay R, Baran R. Onychomycosis: A proposed revision of the clinical classification. *J Am Acad Dermatol* 2011; 65: 1219-27
 20. Zuccarello D, Salpietro D, Gangemi S. *et al.* Familial chronic nail candidiasis with ICAM-1 deficiency: a new form of chronic mucocutaneous candidiasis. *J Med Genet* 2002; 39: 671-5
 21. Taylor R, Boyle J. Guidelines for treatment of onychomycosis. *Br J Dermatol* 2003; 148: 402-10
 22. Lobaina T, Zhurbenko R, Rodríguez C, Zayas J Rodríguez. Identificación de especies de *Candida* de importancia clínica con un método auxonograma modificado. *Rev Cubana Med Trop* 2010; 62: 48-57
 23. Mayer E, Izhak O, Bergman, R. Histopathological Periodic Acid-Schiff Stains of Nail Clippings as a Second-Line Diagnostic Tool Onychomycosis. *Am J Dermatopathol* 2012; 34: 270-3
 24. Manzano-Gayosso P, Méndez-Tovar L, Hernández Hernández F. *et al.* La resistencia a los antifúngicos: un problema emergente en México. *Gac Méd Méx* 2008; 144: 23-6
 25. Pfaller M. Antifungal Drug Resistance: Mechanisms, Epidemiology, and Consequences for Treatment. *Am J Med* 2012; 125: 4-12

26. Gutiérrez-Martínez M, Araiza-Santibañez J, Hernández M. Estudio *in vitro* de antimicóticos contra cepas de *Candida* aisladas de pacientes del Hospital General de México OD. *Dermatol Rev Mex* 2012; 56: 93-101
27. Welsh O, Vera-Cabrera L, Welsh E. Onychomycosis. *Clin Dermatol* 2010; 28: 151-9
28. Subissi A, Monti D, Togni G, Mailland F. Ciclopirox: recent nonclinical and clinical data relevant to its use as a topical antimycotic agent. *Drugs* 2010; 70: 2133-52
29. Monti D, Herranz U, Dal Bo L. *et al.* Nail penetration and predicted mycological efficacy of an innovative hydrosoluble ciclopirox nail lacquer vs. a standard amorolfine lacquer in healthy subjects. *J Eur Acad Dermatol Venereol.* 2013; 27: 153-58
30. García-Agudo L, García-Martos P, Marín-Casanova P, Rodríguez-Iglesias M. Sensibilidad a fluconazol de levaduras de interés clínico: nuevos puntos de corte. *Rev Esp Quimioter* 2012; 25: 266-8
31. Rigopoulos D, Katoulis AC, Ioannides D. *et al.* A randomized trial of amorolfine 5% solution nail lacquer in association with itraconazole pulse therapy compared with itraconazole alone in the treatment of *Candida* fingernail onychomycosis. *Br J Dermatol* 2003; 149: 151-6
32. Martín-Mazuelos E, Cantón-Lacasa E, Espinel-Ingroff A. Otros métodos para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos. *Rev Iberoam Micol* 2007;-----
33. Gupta A. Systemic antifungal agents. *Comprehensive Dermatologic Drug Therapy*. 3rd Edition. Elsevier. 2012 p: 98-119
34. Cribier B.J, Bakshi R. Terbinafine in the treatment of onychomycosis: a review of its efficacy in high-risk populations and in patients with nondermatophyte infections. *Br J Dermatol* 2004; 150: 414-20
35. Segal R, Kritzman A, Cividalli L. *et al.* Treatment of *Candida* nail infection with terbinafine. *J Am Acad Dermatol* 1996; 35: 958-61
36. Zaidi Z, Jafri N, Khan K *et al.* Open label trial of the efficacy and tolerability of Lamisil (Terbinafine) 500 mg once daily in the treatment of onychomycosis due to *Candida*. *J Pak Med Assoc* 1996; 46: 258-60

37. Baran R. Nail fungal infections and treatment. *Hand Clin* 2002; 18: 625-8
38. Vandeputte P, Ferrari S, Coste A. Antifungal Resistance and New Strategies to Control Fungal Infections. *Int J Microbiol* 2012; 1:26
39. Sanglard D. Importancia clínica de los mecanismos de resistencias a los antifúngicos en las levaduras. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2002; 20: 225-34
40. Bonifaz A. *Micología Médica Básica*. Mc Graw Hill. 2012. 4ª Ed. p 542-3
41. Hospenthal D, Murray C, Rinaldi M. The role of antifungal susceptibility testing in the therapy of candidiasis. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2004; 48: 153-60
42. Rex J, Pfaller M, Walsh T. Antifungal Susceptibility Testing: Practical Aspects and Current Challenges *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 643-58
43. Morace G, Amato G, Bistoni F. *et al.* Multicenter comparative evaluation of six commercial systems and the national committee for clinical laboratory standards M27-A broth microdilution method for fluconazole susceptibility testing of *Candida* species. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 2953-8
44. Cuenca-Estrella M, Gómez-Lopez A, Mellado E. *et al.* Correlation between the procedure for antifungal susceptibility testing for *Candida* spp. of the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST) and four comercial techniques. *Clin Microbiol Infect* 2005; 11: 486-92
45. Maldonado I, Fernández L, Vivot W. *et al.* Evaluación de tres métodos para la detección de la sensibilidad in vitro de especies de *Candidaa* los antifúngicos. *Rev Arg Microbiol* 2011; 43: 120-126
46. Kiraz N, Dag I, Oz Y. *et al.* Correlation between broth microdilution and disk diffusion methods for antifungal susceptibility testing of caspofungin, voriconazole, amphotericin B, itraconazole and fluconazole against *Candida glabrata*. *J Microbiol Meth* 2010; 82; 136-40
47. Tapia C. Actualización en pruebas de susceptibilidad antifúngica. *Rev Chil Infect* 2009; 26: 144-150
48. García-Martos P, Domínguez I, Marín P. *et al.* Sensibilidad a antifúngicos de levaduras patógenas emergentes *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2001; 19: 249-56
49. Davey K, Holmes A, Johnson E. *et al.* Comparative Evaluation of FUNGITEST

- and Broth Microdilution Methods for Antifungal Drug Susceptibility Testing of *Candida* Species and *Cryptococcus neoformans*. J. Clin. Microbiol 1998; 36: 926-30
50. Willinger B, Engelmann E, Hofmann H *et al.* Multicenter comparison of Fungitest for susceptibility testing of *Candida* species. Diagn Microbiol Infect Dis 2002; 44: 253-7.
51. Gelotar P, Vchhani S, Patel B, Makwana N. The prevalence of fungi in fingernail onychomycosis. J Clin Diagn Res 2013; 7: 250–252
52. Meireles TE, Rocha MF, Brilhante RS *et al.* Successive mycological nail tests for onychomycosis: a strategy to improve diagnosis efficiency. Braz J Infect Dis 2008; 12: 333-7
53. Mikaeili A, Karimi I. The Incidence of Onychomycosis Infection among Patients Referred to Hospitals in Kermanshah Province, Western Iran. Iran J Public Health 2013; 42: 320–5
54. Hashemi SJ, Gerami M, Zibafar E. Onychomycosis in Tehran: mycological study of 504 patients. Mycoses 2010; 53: 251-5
55. Magaña M, Hurtado V, Fernández R *et al.* Prevalencia de micosis superficiales en pacientes con trasplante renal. DermatologiaCMQ. 2013; 11: 8-12.
56. Güleç AT, Demirbilek M, Seçkin D *et al.* Superficial fungal infections in 102 renal transplant recipients: a case-control study. J Am Acad Dermatol 2003; 49:187-92
57. Kuvandik G, Cetin M, Genctoy G *et al.* The prevalence, epidemiology and risk factors for onychomycosis in hemodialysis patients. BMC Infect Dis 2007; 7: 102
58. Segal R, Kimchi A, Kritzman A, *et al.* The frequency of *Candida parapsilosis* in onychomycosis. An epidemiological survey in Israel. Mycoses 2000; 43: 349-53
59. Mügge C, Haustein UF, Nenoff P. Causative agents of onychomycosis a retrospective study. J Dtsch Dermatol Ges 2006; 4: 218-28
60. Dorko E, Jautová J, Pilipcinec E, Tkáčiková L. Occurrence of *Candida* strains in cases of paronychia. Folia Microbiol Praha 2004; 49: 591-5.
61. Khosravi A, Shokri H, Mansouri P. *et al.* *Candida* species isolated from nails

- and their in vitro susceptibility to antifungal drugs in the department of Dermatology (University of Tehran, Iran). *J Myc Med* 2008; 18: 210-5
62. Ilkit M. Onychomycosis in Adana, Turkey: a 5-year study. *Int J Dermatol* 2005; 44: 851-4
63. Nazar J, Gerosa P, Díaz O. Onicomycosis: epidemiología, agentes causales y evaluación de los métodos diagnósticos de laboratorio. *Rev Argent Microbiol* 2012; 44: 21-5
64. Farahyar S, Zaini F, Kordbacheh P, Rezaie S, Safara M. Overexpression of aldo-keto-reductase in azole-resistant clinical isolates of *Candida glabrata* determined by cDNA-AFLP *Daru* 2013; 21:1

ANEXOS 1

Hoja de colección de datos

Iniciales: _____ Edad: _____ años Sexo: _____

ANTECEDENTES MÉDICOS:

Tratamiento previos: diálisis peritoneal hemodiálisis. Fecha de realización de trasplante renal _____

Crónico degenerativos: _____

Medicamentos actuales: _____

CLÍNICA:

Tipo de onicopatías: Perionixis Onicolisis Distrófica Total

RESULTADOS:

Candidosis ungueal: Si / No

Localización: Manos/Pies

Examen directo: Blastocnididas Pseudohohifas / Blastocnidias Pseudohifas

Cultivo: _____

RESULTADO DE SENSIBILIDAD MEDIANTE FUNGITEST:

Ausencia de crecimiento: Azul-Azul = T- control negativo

Crecimiento lento: cepa intermedia: Rosa-Azul Cepa no inhibida: Rosa-Rosa = T+ control positivo

Cepas sensibles: S Cepas intermedias: I Cepas resistentes: R

CEPAS Especie de <i>Candida</i>	RESULTADO DEL CULTIVO A LAS 48 HORAS A 37°							
	T+	5FC	AB	MCZ	KET	ITRA	FLU	T-

5FC: 5 fluorocitosina. AB: anfotericina. MCZ: miconazol. KET: ketoconazol. ITR: itraconazol FLU:fluconazol

ANEXOS 2

Consentimiento Informado

Autorización para participar en el estudio de investigación titulado:

“Sensibilidad *in vitro*, frecuencia y principales especies involucradas en candidosis ungueal en pacientes postrasplantados de riñón”

Investigadores:

Dr. Andrés Tirado Sánchez, Investigador principal

Dra. Claudia Baños Segura, Investigador asociado

Dra. Rosa María Ponce Olivera, Investigador asociado

Esta forma de consentimiento pudiera tener palabras que yo no entienda. Le puedo preguntar al médico del estudio para que me explique cualquier palabra que yo no entienda totalmente o cualquier duda que yo tenga del estudio .

Como paciente que recibí riñón, se me está invitando a participar en este estudio de investigación para ver que tan frecuente son los hongos en las uñas de mis manos y pies. El hongo que van a buscar en mis uñas se llama *Candida* y es un hongo que puede estar en mis uñas sin producir problemas en mi cuerpo o puede producir en mis uñas una infección, que es una enfermedad que a veces no se siente y va haciendo las uñas gruesas, débiles, que se rompen fácilmente y cambian de color, a veces se puede despegar la uña.

Si yo decido participar en el estudio, debo acudir sólo una vez a revisión y una siguiente vez para conocer el resultado de mi estudio y si lo necesito me digan mis médicos del estudio, que me debo poner en mis uñas, el tratamiento y las revisiones que necesite para ver si ya se quito el hongo, este tratamiento tendré que comprarlo por mi cuenta, como siempre lo he hecho con mis otros tratamientos.

Es importante que me realice este estudio porque el hongo puede destruir mis uñas y puede producir infecciones dentro mi cuerpo porque mis defensas están bajas.

Si decido entrar al estudio, el médico me hará varias preguntas sobre mis enfermedades, los medicamentos que tomo y me revisará mis uñas.

Si decido entrar al estudio, debo seguir con las medicinas que tomo normalmente, no debo suspenderlas por ningún motivo; al entrar en este estudio no se me pedirá que lo haga.

El médico del estudio me hará una revisión de las uñas, tomará algunas fotos de ellas y me hará un raspado de las uñas de las manos y pies, raspándolas con una navajita sin lastimarme la piel, sólo será sobre la uña y no me dolerá, saldrá un polvito que van a mandar a estudiar en un laboratorio y ver si tengo el hongo, el cual no me costará porque estoy participando en este estudio.

Nadie que no esté en el estudio sabrá los resultados de mi estudio, para estudiar la muestra del raspado de mi uña solo le pondrán mis iniciales y el resultado será conocido solo por mi y mis médicos. Es muy probable que los resultados de todos los estudios se junten y se publiquen en una revista seria, por lo que les doy mi autorización para hacer esto a mis médicos, siempre y cuando no revelen quien soy.

Las fotografías se tomarán sin poner mi nombre en la fotografía por lo cual nadie sabrá que son mis uñas ni mis pies y sólo las verán los médicos que hagan este estudio.

Tengo derecho a hacer cualquier pregunta sobre el estudio cuando no entienda algo. Si no quiero hacerlas en este momento puedo volver después y preguntar lo que no entienda o tenga duda. Puedo llamar a mis médicos si no puedo ir al hospital, al Dr. Andrés Tirado Sánchez al cel 55 27 44 28 11 (24hrs) o a la Dra. Rosa María Ponce Olivera, al conmutador 2780-2000 ext. 1055 (lunes a viernes de 8 a 16 hrs) o a la Dra. Claudia Baños Segura al cel 55 23 00 25 94.

Si tengo duda o alguna pregunta sobre mis derechos como paciente de investigación, puedo llamar a la Dra. Estela García Elvira, que es la Presidenta del Comité de Ética al teléfono 2789-2000 extensión 1330, o acudir directamente a la Comisión de Ética del Hospital General de México, en la calle Dr. Balmis 148, Col. Doctores, México, D.F. No voy a firmar este papel a menos que entienda todo lo que me van a hacer y no tenga dudas. Los médicos del estudio me deben dar respuesta a todas mis preguntas y resolver mis dudas del estudio en el que quieren que participe.

Yo puedo decirles que no voy a entrar al estudio y no me va a afectar en mi atención que recibo en el hospital, no pierdo ninguno de mis beneficios como paciente del hospital. Solo debo decirles a mis médicos que no me interesa entrar al estudio, tampoco debo decirles por qué no quiero.

Ni los médicos del estudio ni el Hospital me van a pagar por entrar al estudio, ya que participo de manera voluntaria, sin presiones de ningún tipo y por nadie. Las consultas y tratamientos que no sean parte del estudio, debo pagarlas yo como normalmente lo hago.

Nombre del paciente _____

Fecha _____

Testigo 1 (Nombre) _____ Fecha _____

Dirección _____

Relación con el paciente _____

Testigo 2 (Nombre) _____ Fecha _____

Dirección _____

Relación con el paciente _____

Si yo o mis familiares tenemos algún problema o duda con el estudio, debo llamar al Dr. Andrés Tirado Sánchez al cel. 5527-44-2811 (24hrs) o a la Dra. Rosa María Ponce Olivera al conmutador 27802000 ext. 1055 (lunes a viernes de 8 a 16hrs) o a la Dra. Claudia Baños Segura al teléfono 55 23 00 25 94.

En caso de requerir atención médica debo ir al Servicio de Dermatología del Hospital General de México de lunes a viernes de 8 a 16 hrs o al Servicio de Urgencias del Hospital General de México disponible para mí las 24 hrs.