



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.
FACULTAD DE QUÍMICA.**

**“DETERMINACIÓN DE LOS PATRONES DE SUSCEPTIBILIDAD A
ANTIFÚNGICOS EN LEVADURAS DE LOS GÉNEROS *Candida spp.* y
Trichosporon spp. AISLADAS DE PACIENTES PEDIÁTRICOS EN UN
HOSPITAL DE TERCER NIVEL.”**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA.

PRESENTA

KARINA ZAMARRÓN CALLEJAS



Ciudad de México

2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: **Profesor: Abel Gutiérrez Ramos**
VOCAL: **Profesor: Misael González Ibarra**
SECRETARIO: **Profesor: Mónica Mirabal García**
1er. SUPLENTE: **Profesor: Javier Araiza Santibáñez**
2do. SUPLENTE: **Profesor: Genaro Jiménez Reyes**

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

Laboratorio de Parasitología y Micología del Instituto Nacional de Pediatría.

ASESOR DEL TEMA:

QFB/EBC Mónica Mirabal García

SUSTENTANTE:

Karina Zamarrón Callejas

ÍNDICE.

1. TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.....	1
2. JUSTIFICACIÓN.....	4
3. OBJETIVOS.....	5
4. ANTECEDENTES	
4.1 Pruebas de susceptibilidad antifúngica.....	6
4.2 Metodologías.....	6
4.2.1 Microdilución en caldo.....	6
4.2.1.1 Documento M27-A del CLSI.....	7
4.2.2 Difusión en disco.....	7
4.3 Metodologías comerciales.....	8
4.3.1 Sensititre Yeast One.....	9
4.3.2 ASTY colorimetric panel.....	10
4.3.3 Fungitest.....	10
4.4 Control de calidad.....	11
4.5 Antifúngicos.....	13
4.5.1 Inhibidores de la síntesis de ergosterol.....	14
4.5.1.1 Azólicos.....	14
4.5.1.2 Derivados poliénicos.....	18
4.5.2 Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos.....	21
4.5.3 Inhibidores de la síntesis de la pared fúngica.....	22
4.5.4 Mecanismos de resistencia.....	23
4.6 Infecciones causadas por hongos oportunistas.....	25
4.6.1 Factores predisponentes.....	26
4.7 Características del género <i>Candida spp</i>	27
4.7.1 Aspectos microbiológicos.....	30
4.7.2 Métodos de identificación.....	31
4.7.3 Susceptibilidad antifúngica.....	34
4.8 Características del género <i>Trichosporon spp</i>	35
4.8.1 Aspectos microbiológicos.....	36
4.8.2 Métodos de identificación.....	36

4.8.3 Susceptibilidad antifúngica.....	38
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	39
6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
6.1 Aspectos clínicos.....	48
6.2 Frecuencias de aislamiento de los géneros <i>Candida spp.</i> y <i>Trichosporon spp.</i>	54
6.3 Patrones de susceptibilidad a antifúngicos para el género <i>Candida spp.</i>	57
6.4 Patrones de susceptibilidad a antifúngicos para el género <i>Trichosporon spp.</i>	81
6.5 Resultados del tratamiento antifúngico en los aislamientos obtenidos de los géneros <i>Candida spp.</i> y <i>Trichosporon spp.</i>	83
6.6 Resistencia presentada en especies de los géneros <i>Candida spp.</i> y <i>Trichosporon spp.</i>	88
7. CONCLUSIONES.....	96
8. FUENTES DE INFORMACIÓN.....	99

1. TÉRMINOS Y ABREVIATURAS.

Concentración Mínima Inhibitoria (CMI): Es la concentración más baja del agente que causa una reducción visible del crecimiento en una prueba de agar o dilución en caldo.

Prueba de susceptibilidad antimicrobiana: Es una clasificación basada en la respuesta *in vitro* de un organismo a un agente antimicrobiano.

Susceptible, Sensible (S): Es una categoría que implica que los aislados son inhibidos cuando la dosis recomendada es usada en el sitio de infección.

Dosis dependiente (DP): Categoría que implica la eficacia del agente cuando se utiliza una dosis más alta de la normal que pueda llegar a altos niveles en sangre.

Intermedio (I): Categoría que implica que la cepa puede ser sensible o resistente, pero no se sabe con certeza, por lo tanto los niveles que estén en sangre o tejidos, pueden ser diferentes a las CMI's obtenidas *in vitro*.

Resistente (R): Los aislados no son inhibidos por las concentraciones normales del agente. Existe un 60% de probabilidad de fracaso terapéutico.

Control de calidad: Técnicas de la operación que son usadas para asegurar reproducibilidad y exactitud.

Estandarización: Proceso mediante el cual se realiza una actividad de manera estándar o establecida. Método establecido, aceptado y normalmente seguido para realizar determinado tipo de actividades o funciones.

Control: Es una preparación perfectamente definida, homogénea, estable y de gran parecido a las muestras a analizar. En microbiología las cepas de referencia son utilizadas como control.

Indicador químico: Sustancia que al añadirse a una muestra, produce algún cambio químico que es apreciable a simple vista.

Azul de alamar: Indicador redox, el cual vira de azul a rosa con presencia de oxígeno en el medio.

Medio RPMI 1640: Es un medio celular usado para cultivos celulares. Contiene una gran cantidad de fosfatos.

Nefelometría: Es un proceso analítico que se basa en la dispersión de la radiación que atraviesan las partículas de materia.

Efecto *trailing*: Inhibición parcial de crecimiento en un rango extendido de las concentraciones antifúngicas, es decir, se presenta leve crecimiento en concentraciones altas del antifúngico. Este fenómeno se observa frecuentemente en los agentes azólicos.

Medio bifásico: Constituido por una fase sólida y una fase líquida. Los medios para hemocultivo generalmente son de este tipo de constitución.

Agente fungistático: Sustancia que inhibe la función de los hongos, inhiben su crecimiento y reproducción sin causar su muerte.

Agente fungicida: Sustancia que produce la muerte del hongo.

Tasa de mortalidad: Índice creado para reflejar la cantidad de defunciones por cada mil ciudadanos de determinada comunidad en un lapso de tiempo concreto.

Morbilidad: Sirve para señalar la cantidad de individuos considerados enfermos o víctimas de enfermedad en un espacio y tiempo determinados.

Inmunodeficiencia: Estado patológico del sistema inmunitario que lo hace disfuncional, por lo que el organismo se vuelve vulnerable a infecciones.

Neutropenia: Niveles bajos de neutrófilos en sangre.

Hongo dimórfico: Hongo que tiene la facultad de pasar de estado levaduriforme a micelial según las condiciones del medio, como la temperatura y nutrientes.

Síndrome de Apert: Es una enfermedad genética en la cual las suturas entre los huesos del cráneo se cierran más temprano de lo normal, afectando la forma de la cabeza y la cara.

Síndrome de Coffin: Trastorno genético y neurológico caracterizado por retraso psicomotor y del crecimiento, anomalías en los dedos, dismorfismo facial y cambios esqueléticos progresivos.

Fibrosis Quística: Trastorno hereditario que provoca la acumulación de moco espeso y pegajoso en los pulmones, el tubo digestivo y otras áreas del cuerpo. Es uno de los tipos de enfermedad pulmonar crónica más común en niños.

Fagocitosis: Ingestión de microorganismos o partículas de materia resultantes de la rotura del tejido por leucocitos polimorfonucleares (neutrófilos, basófilos, eosinófilos) y monocitos.

Quimiotaxis: Proceso inmunológico donde células especializadas denominadas fagocitos persigue el gradiente extraño que va a ser fagocitado mediante el gradiente de partículas químicas que desprende el microorganismo o partícula extraña , se desplaza rápida y eficazmente siguiendo este gradiente hasta poder adherirlo, rodearlo y fagocitarlo.

PZ: Posaconazol

5-FC: Fluorocitosina.

ANFOB: Anfotericina B

VOR: Voriconazol.

FZ: Fluconazol.

CAS: Caspofungina.

IZ: Itraconazol.

KZ: Ketoconazol.

UFC/mL: Unidades Formadoras de colonias por mililitro.

2. JUSTIFICACIÓN.

Las infecciones producidas por hongos oportunistas han ido en aumento en los últimos años, esto debido a la presencia cada vez más alta de pacientes que presentan padecimientos o están bajo tratamientos que propician disminución en la acción del sistema inmunológico.

Enfermedades tales como diabetes, cáncer, inmunodeficiencias primarias y secundarias, VIH, uso de inmunosupresores, quimioterapia, entre otros, han sido los factores de predisposición más importantes para que se presenten las micosis de este tipo.

Hoy en día se consideran a los géneros *Candida spp.* y *Trichosporon spp.* los principales hongos levaduriformes causales de micosis oportunistas; no obstante otro tipo de géneros como *Cryptococcus spp.*, *Malassezia spp.*, *Rhodotorula spp.*, *Saccharomyces spp.*, también son considerados agentes emergentes de este tipo de infecciones en el área clínica.

Si bien hoy se cuenta con una gran variedad de antifúngicos para tratar este tipo de infecciones, el uso como profiláctico de estos ha generado la aparición de especies que no se consideraban agentes etiológicos de las micosis, lo que ha provocado fracasos terapéuticos por la resistencia intrínseca que llegan presentar y por la poca información que se tiene acerca del tratamiento óptimo para erradicarlas. Igualmente, los mecanismos de resistencia que han desarrollado especies que en un principio eran sensibles han propiciado que un tratamiento empírico no sea la mejor opción para el tratamiento.

Debido a esta problemática se han realizado varios estudios sobre las frecuencias de aislamiento y la susceptibilidad antifúngica de estos géneros; sin embargo, hoy en día no se cuenta con estudios que estén enfocados a lo que sucede en la población pediátrica, cuando se presentan este tipo de infecciones.

Si bien es cierto que las opciones de tratamiento son similares entre la población pediátrica y la población adulta, existen algunas diferencias en lo referente a los tipos de diagnóstico así como de los factores de riesgo asociados; por lo tanto, el tener un estudio enfocado a esta población, que permita saber las frecuencias de aislamiento de hongos levaduriformes, especialmente de los géneros *Candida spp.* y *Trichosporon spp.*, así como de su susceptibilidad antifúngica puede ayudar a saber la situación de esta población con respecto a las micosis oportunistas.

Igualmente, que con este estudio el médico tome consciencia de la importancia de este tipo de pruebas, para que de esta manera pueda brindar un tratamiento que se base en evidencias experimentales y que con el paso del tiempo, se disminuya el tratamiento empírico, que muchas veces no tiene buenos resultados.

3. OBJETIVOS.

Objetivo General.

- Determinar los patrones de susceptibilidad a antifúngicos en hongos levaduriformes de los géneros *Candida spp.* y *Trichosporon spp.* aislados de pacientes pediátricos del Instituto Nacional de Pediatría (INP) en el periodo de Junio del 2014 a Junio del 2015.

Objetivos Particulares.

- Determinar las frecuencias de aislamiento de los géneros *Candida spp.* y *Trichosporon spp.*
- Identificar cuáles son los principales factores de riesgo asociados que propician la presencia de infecciones por hongos del tipo oportunista en la población pediátrica del INP.
- Mostrar cuales son los antifúngicos que se administran en el INP para el tratamiento de micosis oportunistas y comparar con los patrones de susceptibilidad *in vitro* de las especies de los géneros *Candida spp.* y *Trichosporon spp.*
- Identificar a las especies de los géneros *Candida spp.* y *Trichosporon spp.* que presentaron CMI's altas y analizar si el tratamiento elegido se corresponde con el patrón de susceptibilidad determinado *in vitro*, así como la respuesta observada en el paciente.

4. ANTECEDENTES.

4.1 Pruebas de Susceptibilidad Antifúngica.

Definición y utilidad.

Durante las últimas décadas el aumento de las infecciones fúngicas ha sido constante, por tal razón, el establecimiento de un método reproducible *in vitro* para medir la susceptibilidad antimicrobiana es un herramienta importante para la identificación de los microorganismos biológicamente resistentes y seleccionar la terapia antimicrobiana óptima. ⁽¹⁾.

Las condiciones de realización de estas pruebas son completamente diferentes a lo que ocurre en el organismo humano; sin embargo, cuando los resultados se interpretan con sentido común son de enorme utilidad para el clínico. Los resultados obtenidos tras analizar la sensibilidad de los microorganismos deben servir para elegir de forma óptima el tratamiento en la comunidad y en el hospital.

La realización de pruebas de susceptibilidad es una de las funciones más importantes de los laboratorios de Microbiología Clínica. Los resultados obtenidos con estas pruebas tienen muchas aplicaciones que influyen en el tratamiento y en la política de control de la infección. Asimismo, son pruebas cruciales para el descubrimiento y desarrollo de nuevos antimicrobianos.⁽⁴⁾

4.2 Metodologías.

Existen tres procedimientos para determinar la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos. Estos son:

4.2.1 Microdilución en caldo.

En la técnica de dilución en caldo, se realiza una dilución del antimicrobiano en un medio de cultivo adecuado para el crecimiento del microorganismo que se va a ensayar. Se inocula el microorganismo, se incuba a una temperatura adecuada y se determina la concentración del antimicrobiano que produce la inhibición del crecimiento definida como CMI (Concentración Mínima Inhibitoria). Esta metodología puede realizarse a macroescala utilizando tubos o microescala, utilizando microplacas de 96 pocillos.

4.2.1.1 Documento M27-A del CLSI

Dado el aumento de las infecciones fúngicas en los últimos años el Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) realizó en 1985, una encuesta en diferentes laboratorios para conocer que pruebas de susceptibilidad antifúngica realizaban habitualmente y como las realizaban. Los resultados mostraron que pocos laboratorios realizaban la prueba y que la metodología era muy variada. Como consecuencia de esta realidad el CLSI creó un subcomité para el estudio y la estandarización de las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos para los géneros de *Candida spp.* y *Cryptococcus spp.*, que dio a la publicación en 1997 del método conocido como M27-A. En el año 2008 se publicó la tercera edición del documento M27- A3. ^(2,3)

El documento M27-A3 del CLSI es un estándar de referencia desarrollado por un proceso de consenso para facilitar los acuerdos entre laboratorios para la medida de la susceptibilidad de hongos levaduriformes a agentes antifúngicos. Esta metodología no aplica para hongos dimórficos como *Blastomyces dermatitidis* o *Histoplasma capsulatum* variedad *capsulatum*.

En este documento se describe el método para la implementación de la prueba, la selección y preparación de los agentes antifúngicos, la interpretación de la CMI para los antifúngicos: Fluconazol, Itraconazol, Voriconazol, Caspofungina y Fluorocitosina, así como el control de calidad y las condiciones óptimas para el desarrollo de la prueba. ⁽³⁾

Al ser un método de referencia, establece las bases para el desarrollo de otros métodos.

4.2.2 Difusión en disco.

En la técnica de difusión en disco se inocula el microorganismo en la superficie del agar y se deposita un disco con una concentración conocida de antimicrobiano. Después se incuba a una temperatura adecuada a un tiempo de 24-48h aproximadamente. Posteriormente, se lee la zona de inhibición del crecimiento del microorganismo alrededor del disco. Dependiendo del tamaño de la zona, se puede determinar si el microorganismo es susceptible, indeterminado o resistente al antimicrobiano, ya que los diámetros tienen una relación inversa con la CMI.

Documento M44-A del CLSI.

El documento M44-A del CLSI describe la técnica de difusión en agar para los hongos levaduriformes del género de *Candida sp.*, y contiene la relación entre el diámetro de la zona de inhibición con la CMI de tres antifúngicos: Fluconazol, Voriconazol y Caspofungina.⁽²⁾

4.3 Metodologías Comerciales de la técnica de microdilución en caldo.

La laboriosidad y complejidad de los métodos estandarizados es poco compatible con las características del laboratorio de Microbiología de tipo medio y de la creciente demanda de este tipo de ensayos. Si bien, las condiciones impuestas están normalizadas garantizando así la validez de los datos obtenidos, se trata de un método poco práctico desde el punto de vista rutinario y con cierta dificultad en la interpretación.

De este modo, la aparición de métodos de sencilla y práctica ejecución que puedan tener utilidad clínica marca, una vez consolidado el método de referencia, la aceptación y su utilización en la práctica en laboratorios de nivel diagnóstico. Una de las ventajas diagnósticas que aportan los sistemas comerciales de estudio de la sensibilidad a los antifúngicos es la facilidad con la que pueden introducirse en el uso diario en el laboratorio de Microbiología clínica.⁽⁷⁾

En la actualidad tres técnicas son las de mayor uso en el área clínica puesto que solucionan el problema causado por la lectura, que es crítico para los antifúngicos azólicos (*efecto de trailing*), facilitando esta por medio de un cambio de color del indicador de pH presente en el medio de cultivo. Estos métodos se han caracterizado por un alto nivel de reproducibilidad y estandarización; no obstante algunos han sido aceptados más por la ineludible relación coste/beneficio que por su correlación con el método de referencia; tal es el caso del sistema Fungistest, que si bien es uno de los más utilizados, al tener sus propios puntos de corte e interpretación, no tiene una correlación con el método de referencia.

Las técnicas comercializadas son preferidas en el laboratorio por su asequibilidad y grado de estandarización, la reducción del tiempo de procesado, el coste del ensayo, así como la fiabilidad de los resultados que han de ser orientativos para el clínico.

4.3.1 Sensititre Yeast One.

El sistema Sensititre Yeast One se basa en una técnica de microdilución en medio líquido RPMI 1640 con glucosa al 2% que contiene un indicador de pH (Azul de Alamar) que permite determinar la sensibilidad *in vitro* de forma cuantitativa y por medio de un cambio colorimétrico a cinco antifúngicos (anfotericina B, fluconazol, itraconazol, ketoconazol y 5-fluorocitosina). Es un método poco laborioso, estandarizado y con un gran paralelismo con respecto al método descrito en el documento M27-A. En la práctica puede ser utilizado para la sensibilidad tanto de hongos levaduriformes como de hongos filamentosos. No obstante, para estos últimos, tanto por las sustancias incluidas como por la utilidad crítica de los resultados propia de este tipo de hongos, hace poco útil su uso de forma rutinaria.

La laboriosa preparación de las diluciones de los fármacos y del inóculo descritas en el método de referencia esta automatizada, por lo que se eliminan algunas limitaciones técnicas. Las distintas concentraciones de antifúngico usadas de forma individual para un solo aislamiento, vienen ya preparadas en la placa de forma deshidratada. Una de las características más importantes de este método comercial radica en la posibilidad de incorporar nuevos antifúngicos. En la medida que sustancias como voriconazol, posaconazol o caspofungina, entre otros, vayan siendo introducidos en la clínica. La adición posterior del medio de cultivo en el que ya figura la suspensión de inóculo, permite la disolución de la concentración final de antifúngico correspondiente y del indicador de pH. El inóculo se ajusta turbidimétricamente y el tamaño empleado del mismo coincide con el del método de referencia.

La determinación de las CMI's se realiza observando la variación de color del indicador Azul de Alamar (pasa de azul a rosa cuando hay crecimiento) que está asociado al crecimiento del inóculo, permite la determinación más clara de los puntos de corte.

Datos obtenidos por Carrillo, Abarca y Quindos (2001) con aislamientos clínicos de *Candida spp.* y *Cryptococcus spp.* apuntan valores de correlación entre Sensititre Yeast One y el método de referencia del 83% para el ketoconazol, 84% para itraconazol, 94% para fluconazol, 97% para fluorocitosina y 100% para anfotericina B.

4.3.2 ASTY colorimetric panel.

ASTY colorimetric panel es un sistema de determinación de la sensibilidad en tiras de pocillos que contienen previamente deshidratadas las concentraciones de antifúngico a ensayar. Cuatro son los antifúngicos de trabajo (anfotericina B, fluorocitosina, fluconazol e itraconazol), en rangos de concentraciones similares utilizados en el documento M27-A.

De este modo, ambos métodos son igualmente paralelos en cuanto a ejecución y únicamente la presencia de un indicador colorimétrico de pH constituye una diferencia. El sistema permite la incorporación de nuevos antifúngicos en la medida que estos estén disponibles.

4.3.3 Fungitest.

El sistema Fungitest consiste en una galería con pocillos que incorporan concentraciones discriminantes para conocer la sensibilidad a anfotericina B, fluconazol, ketoconazol, itraconazol, fluorocitosina y miconazol.

Los pocillos se inoculan con suspensiones de 10^3 UFC/mL. El método utiliza RPMI 1640 como medio de cultivo pero la determinación de la sensibilidad a diferencia de los otros métodos mencionados y el de referencia, es cualitativa, no cuantitativa. Además, los criterios utilizados para la clasificación difieren de los establecidos por el CLSI para los hongos levaduriformes, puesto que este método establece sus propios puntos de corte. Para la anfotericina B se cumplen 2 y 8 $\mu\text{g/mL}$; para fluorocitosina 2 y 32 $\mu\text{g/mL}$; para fluconazol 8 y 64 $\mu\text{g/mL}$; 0.5 y 4 $\mu\text{g/mL}$ para itraconazol y ketoconazol; 0.5 y 8 $\mu\text{g/mL}$ para miconazol.

4.4 Control de calidad.

Los objetivos del programa de control de calidad son los siguientes:

- La precisión y exactitud del procedimiento de ensayo.
- El rendimiento adecuado de los reactivos, las condiciones del ensayo y de las instrucciones utilizadas en el procedimiento.
- El rendimiento adecuado del personal que realiza las técnicas y lee los resultados.

Estos objetivos se alcanzan si se utilizan las cepas de control seleccionadas por su estabilidad genética y por su utilidad para controlar el método que se está ensayando.

Selección de las cepas de referencia.

Las cepas de referencia son microorganismos con características fenotípicas y genotípicas definidas, que son empleadas como control para determinaciones microbiológicas. Algunas de las utilidades de las cepas de referencia son:

- Validación de métodos.
- Asignación de valores a otros cultivos.
- Comparación de resultados obtenidos por otros laboratorios.
- Control de reactivos, métodos y procedimientos.

Estas cepas se deben obtener de organismos reconocidos como colecciones Nacionales o Internacionales reconocidas (American Type Culture Collection ATCC; National Collection of Pathogenic Fungi NCPF, Colección Española de Cultivos Tipo, etc.). También se pueden adquirir de forma comercial o de Instituciones con habilidad demostrada para almacenar y utilizar estos organismos de forma correcta.

Las cepas de referencia ideales para realizar el control de calidad deben de tener CMI's en la mitad de intervalos de concentraciones ensayadas de todos los antifúngicos. La cepa de control ideal tiene la CMI en la quinta dilución doble de una serie de nueve diluciones; sin embargo, también es aceptable que este entre la tercera y la séptima dilución.

Antes de que una cepa sea aceptada como de referencia debe ser evaluada el número de veces necesario para demostrar que su patrón de sensibilidad a los antifúngicos es estable.

El documento M27-A contiene las cepas de control de calidad que se pueden utilizar para este propósito, así como los puntos de corte para validar el método. Estas son *Candida krusei* ATCC 6258 y *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

Tabla. Intervalos de CMI leídas a las 24h y 48h de los controles de calidad para la técnica de microdilución en caldo, establecidos por el documento M27-A3 del CLSI.

		MIC (µg/mL)					
Organismo	Agente antifúngico	24h			48h		
		Rango	Moda	%Dentro del rango	Rango	Moda	%Dentro del rango
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	Anfotericina B	0.25-2.0	0.5	97.1	0.5-4.0	2	91.7
	Anidalfungina	0.25-2.0	1	95	0.5-2.0	1	95
	Casposfungina	0.25-1.0	0.5	96.7	0.5-4.0	1	92.9
	Fluorocitosina (5-FC)	0.06-0.25	0.12	99.2	0.12-0.5	0.25	97.9
	Fluconazol	0.5-4.0	2	98.2	1.0-4.0	2	98.1
	Itraconazol	0.12-0.5	0.25	95.8	0.12-0.5	0.25	97.5
	Ketoconazol	0.03-0.25	0.06/0.12	97.5	0.06-0.5	0.12	98.3
	Micafungina	0.5-2.0	1	100	0.5-4.0	1	100
	Posaconazol	0.06-0.25	0.12	96.7	0.06-0.25	0.12	98.8
	Ravuconazol	0.016-0.12	0.06	95.8	0.016-0.12	0.06	100
	Voriconazol	0.016-0.12	0.06	100	0.03-0.25	0.06	100
<i>Candida krusei</i> ATCC 6258	Anfotericina B	0.5-2.0	1	100	1.0-4.0	2	100
	Anidalfungina	0.03-0.12	0.06	97.9	0.03-0.12	0.06	97.5
	Casposfungina	0.12-1.0	0.5	98.8	0.25-1.0	0.5	97.5
	Fluorocitosina (5-FC)	4.0-16.0	8	97.5	8.0-32.0	16	99.6
	Fluconazol	8.0-64.0	16	100	16-128	32	100
	Itraconazol	0.12-1.0	0.5	95.8	0.25-1.0	0.5	100
	Ketoconazol	0.12-1.0	0.5	95.4	0.25-1.0	0.5	99.6
	Micafungina	0.12-0.5	0.25	99.6	0.12-0.5	0.25	99
	Posaconazol	0.06-0.5	0.25	100	0.12-1.0	0.5	99.6
	Ravuconazol	0.06-0.5	0.25	93.3	0.25-1.0	0.5	100
	Voriconazol	0.06-0.5	0.25	98.3	0.12-1	0.5	100

Conservación de las cepas de referencia.

Las cepas de referencia se deben de almacenar de tal forma que se minimice la posibilidad de mutación.

Periodos prolongados de conservación.

Hay dos métodos de elección para la conservación prolongada de cepas de referencia. Los hongos levaduriformes se pueden cultivar en agar papa dextrosa y congelar a -70°C. Como

alternativa, las cepas de referencia pueden ser preservadas realizando una suspensión del cultivo en una solución de Glicerol al 15% en microviales y congelar a -70°C .

Periodos cortos de conservación.

Se prepararan stocks cultivando las cepas en agar Dextrosa de Sabouraud (ADS) o agar Papa Dextrosa (PDA) , las cuales se guardan a una temperatura que oscila entre 2°C y 8°C .Cada dos semanas se preparan nuevos medios de cultivo. Para evitar contaminación de las cepas se recomienda no realizar más de tres resiembras por stock.

Uso rutinario de las cepas de referencia.

Se recomienda realizar los siguientes pasos para utilizar de forma rutinaria estas cepas:

- 1.- Sacar un tubo del congelador.
- 2.- Dejar que se descongele.
- 3.- Subcultivarlo en agar Saboraud (ADS) o agar Papa Dextrosa (PDA) a 35°C durante el tiempo necesario para que se alcance un crecimiento adecuado.
- 4.- Una vez crecidas hay que utilizarlas según los procedimientos recomendados.

Frecuencia del Control de Calidad.

Intervalos de las CMI's.

En general una de cada veinte evaluaciones de las cepas de control de calidad puede estar fuera del intervalo recomendado. Si esto ocurre dos veces consecutivas o más de dos veces en veinte evaluaciones hay que tomar medidas de corrección. Transcurrida la acción correctiva, comienzan a contar las veinte veces.

Todos los días que se realiza una prueba se deben de utilizar cepas de control de calidad.

4.5 Antifúngicos.

Los antimicóticos, también llamados antifúngicos, son una serie de medicamentos que tienen diversas acciones frente a los hongos productores de micosis superficiales, subcutáneas y profundas, tanto patógenos primarios como oportunistas. A este tipo de fármacos se les puede

clasificar de acuerdo a sus características, tales como: mecanismo de acción, composición química, espectro de acción, tipo de micosis contra la que actúan, etc. ⁽⁵⁾

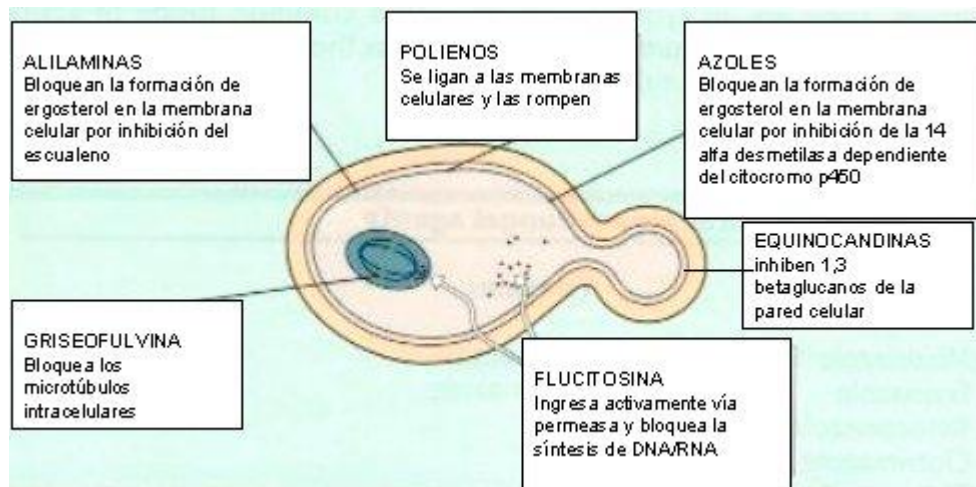


Figura 1. Mecanismos de acción de los diferentes grupos de antifúngicos. Imagen obtenida de www.medwave.cl.

4.5.1 Inhibidores de la síntesis de ergosterol.

Los tres principales agentes antifúngicos de uso clínico: azoles, polienos y arilaminas; todos ellos con actividad antifúngica sobre la síntesis o directo sobre el ergosterol, el principal componente de la membrana de los hongos.

4.5.1.1 Azólicos.

Se dividen en dos tipos: imidazólicos y triazólicos. Son antimicóticos sintéticos de amplio espectro y tienen propiedades farmacológicas muy variadas; algunos presentan actividad bacteriana contra grampositivos, algunos gramnegativos y anaerobios, así como acción antiparasitaria contra protozoarios y helmintos, por ejemplo, metronidazol y mebendazol. Algunos son inmunopotenciadores como el levamisol.

Imidazólicos.

Incluye medicamentos de uso tópico, con excepción del ketoconazol, el cual cuenta con presentación oral.

Mecanismo de acción.

Básicamente fungistático y solo en concentraciones elevadas y frente a ciertos hongos son fungicidas. Actúan en la síntesis del ergosterol, en específico a nivel de la enzima 14- α -esterol desmetilasa, la cual es dependiente de la citocromo P-450-oxidasa. Al alterar esta ruta metabólica se genera aumento de lanosterol y disminución del ergosterol, lo cual ocasiona una membrana celular fúngica defectuosa que altera el intercambio celular, en particular del conjunto de enzimas de ATPasa sodio/potasio y otros iones. Tienen acción directa sobre algunas enzimas mitocondriales, en particular citocromo-oxidasa, catalasa y peroxidasa; esto genera acumulación de peróxido de hidrogeno, lo que ocasiona daño intracelular.

Ketoconazol.

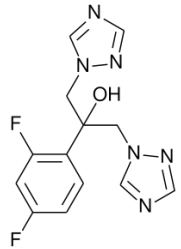
Acción	Fungistático y fungicida a altas concentraciones.
Espectro	<i>Candida spp.</i> , <i>Malassezia spp.</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Dermatofitos</i> , <i>Histoplasma capsulatum</i> , <i>Coccidioides immitis</i> .
Indicaciones	Tiñas, Onicomicosis, Candidiasis cutánea y vaginal, Pitiriasis versicolor.
Presentación	Crema (2%), talco (2%), óvulos (400mg), champú (0.5 y 2%), suspensión (20mg/mL), tabletas 200mg.
Dosis	Dependiendo de la infección fúngica
Contraindicaciones	Hipersensibilidad; pacientes con hepatitis aguda y con disfunción suprarrenal.
Efectos colaterales	Náuseas, dolor abdominal, diarrea, cefalea, vértigo, fotofobia, en raras ocasiones anemia y trombocitopenia. Al altas dosis hepatitis medicamentosa y padecimientos endocrinos por la inhibición en la síntesis de testosterona (ginecomastia)
Interacciones medicamentosas	Medicamentos que disminuyen la absorción de Ketoconazol: Antiácidos e inhibidores de la bomba de protones. Medicamentos que aumentan la absorción de Ketoconazol: Anticoagulantes, ciclosporina, cisaprida y esteroides.
Observaciones.	<ul style="list-style-type: none"> - En desuso para micosis profundas por efectos colaterales. - Efecto antiinflamatorio (aplicación tópica) y se le considera inmunopotenciador moderado. - Efecto antiparasitario: <i>Leishmania tropica</i>, <i>Plasmodium falciparum</i> y <i>Tripanosoma spp.</i>; efecto antiinflamatorio y antibacteriano.

Triazólicos.

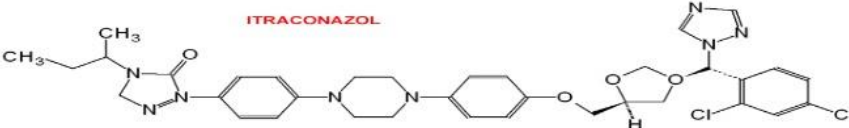
Tienen un mecanismo de acción similar al de los imidazólicos, es decir, actúan interrumpiendo la síntesis del ergosterol: el paso bioquímico específico es igual que en todos los azoles, la inhibición de la 14- α -esterol desmetilasa. A nivel mitocondrial también tienen acción sobre algunas enzimas: NADH-oxidasa, peroxidasa y catalasa, lo que genera aumento del peróxido de hidrógeno, lo que resulta en la detención del crecimiento fúngico.

Básicamente se consideran como fungistáticos y en ciertos hongos (*Candida spp.*) a altas concentraciones, se comportan como fungicidas. La mayoría de los derivados son de uso sistémico: fluconazol, itraconazol, posaconazol y voriconazol.

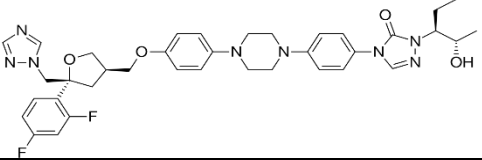
Fluconazol.

Acción	Fungistático. 
Espectro	<i>Candida spp.</i> , <i>Malassezia spp.</i> , <i>C.neoformans</i> y <i>C.gatti</i> , <i>Dermatofitos</i> , <i>Hongos dimorficos (P.brasilensis)</i> , <i>C.immitis</i> e <i>H. capsulatum</i> .
Indicaciones	Candidiasis cutánea, mucosas y sistémica, tiñas, pitiriasis versicolor, criptococosis, zigomicosis, coccidioidomicosis, histoplasmosis, esporotricosis diseminada.
Presentación	Capsúlas de 50, 100 y 150mg, solución intravenosa (frasco de 50mL)
Dosis	Pediatrica: 3-5 mg/Kg
Contraindicaciones	Hipersensibilidad
Efectos colaterales	Náuseas, dolor abdominal, diarrea, vómito, cefalea, exantema y eritrodermia
Interacciones medicamentosas	Incremento tiempo de protrombina cuando se asocia a Warfarina. Aumenta los niveles de ciclosporina, simvastatina, metilprednisona y dexametasona. Disminuye la concentración de fluconazol con fármacos como rifampicina, fenitoína, y benzodiacepinas.
Observaciones.	<ul style="list-style-type: none"> - Uso profiláctico en pacientes con trasplante hematopoyético y en tratamiento de quimioterapia. - Es el azólico que mejor cruza barrera hematoencefálica. - Se elimina lentamente, por lo que se mantiene en mucosas y tejidos queratinizados por largo tiempo. - Algunas especies de <i>Candida</i> presentan resistencia: <i>C.krusei (innata)</i>, <i>C.glabrata</i> y algunas cepas de <i>C.albicans</i>.

Itraconazol.

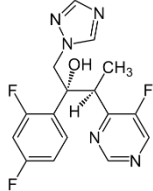
Acción	Fungistático	
Espectro de acción.	<i>Candida spp</i> , <i>Malassezia spp.</i> , <i>C.neoformans</i> , <i>Dermatofitos</i> , <i>hongos dematiáceos (F.pedrosoi)</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Mucorales</i> , <i>C. immitis</i> e <i>H. capsulatum</i> .	
Indicaciones	Tiñas, onicomycosis, candidiasis cutánea, de mucosas y sistémica, criptococosis, cromoblastomycosis, aspergilosis, coccidiomycosis e histoplasmosis.	
Presentación	Cápsulas de 100mg, solución oral de 150mL (10mg/mL) e intravenosa de 10mg/mL	
Dosis	Pediátrica: 5mg/Kg al día.	
Contraindicaciones	Hipersensibilidad	
Efectos colaterales	Náuseas, dolor abdominal, vómito y diarrea.	
Interacciones medicamentosas	Aumento tiempo de protrombina con anticoagulantes Aumento niveles de ciclosporina	
Observaciones	<ul style="list-style-type: none"> - Es diez veces más potente que el ketoconazol. - Alta afinidad por tejido queratinizado y glándulas sebáceas. 	

Posaconazol.

Acción	Fungistático	
Espectro de acción	Cepas resistentes de <i>Candida spp.</i> a Fluconazol e Itraconazol, <i>C.neoformans</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Rhizopus spp.</i> , <i>C.immitis</i> e <i>H.capsulatum</i> .	
Indicaciones	Candidiasis orofaríngea, aspergilosis invasiva, hialohifomicosis por <i>Fusarium spp.</i> , cromoblastomycosis, mucormycosis.	
Presentación	Suspensión oral 100mL (40mg/mL)	
Dosis	Depende de la infección fúngica.	
Contraindicaciones	Hipersensibilidad. No se han evaluado de forma adecuada su uso seguro en niños menores de 13 años. No usar durante el embarazo y lactancia.	
Efectos colaterales	Cefalea, náusea, vómito y diarrea.	

Interacciones medicamentosas	Aumento niveles de ciclosporina, felodipino, lovastatina, midazolam y tacrolimus. Disminuye la concentración de posaconazol con carbamacepina y fenitoína.
Observaciones	<ul style="list-style-type: none"> - De utilidad como profiláctico por infecciones por <i>Candida spp.</i>, y <i>Aspergillus spp.</i> en pacientes severamente inmunosuprimidos. - Aumenta su concentración cuando se administra con alimentos ricos en grasas.

Voriconazol.

Acción	Fungistático 
Espectro de acción	<i>Aspergillus spp.</i> y <i>Candida spp.</i>
Indicaciones	Aspergilosis invasiva (fármaco de elección), candidiasis esofágica y sistémica en pacientes neutropénicos. Infecciones de médula ósea y Sistema Nervioso Central.
Presentación	Tableta de 50 y 200mg, suspensión oral de 40mg/mL e intravenosa 200mg liofilizado para reconstituir y llegar a una solución de 10mg/mL
Dosis	Aspergilosis 4mg/Kg iv. Dos veces al día.
Contraindicaciones	Requiere ajuste de dosis en pacientes con daño hepático y renal.
Efectos colaterales	Náuseas y vómito.
Interacciones medicamentosas	Aumenta la concentración de fármacos como: ciclosporina, felodipino, ibuprofeno, omeprazol, tacrolimus, vincristina y warfarina. Disminuyen la concentración del antimicótico: rifampicina, fenobarbital y carbamacepina.
Observaciones	<ul style="list-style-type: none"> - No presenta acción frente a <i>Zygomycetos</i>. - La fórmula intravenosa se asocia con un coadyuvante como estabilizador (sulfobutil éter-β-ciclodextrina de sodio), la cual se acumula a nivel renal, requiriendo ajuste de dosis en pacientes con nefropatías.

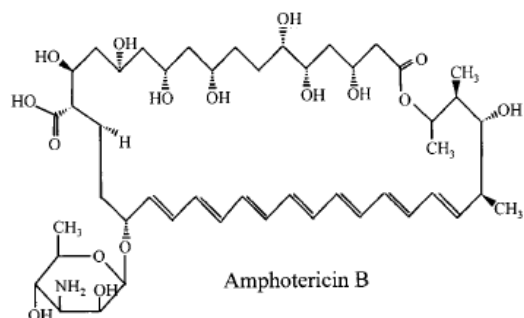
4.5.1.2 Derivados poliénicos.

Son una serie de más de 50 antibióticos naturales resultado del antagonismo entre actinomicetos y hongos. Su estructura básica es de un macrólido poliénico, formado por un anillo de 26-38 carbonos, pueden tener como radicales un éster o una lactona interna. Tres son los compuestos más importantes: Anfotericina B, nistatina y primaricina.

Mecanismo de acción.

Son fungistáticos y fungicidas. Actúan a nivel de la membrana fúngica y parte del sistema endomembranoso. Su mecanismo de acción se debe a la propiedad que tienen de adherirse a los esteroides, en particular al ergosterol, lo que origina la formación de grandes poros y espacios en las membranas celulares, como consecuencia se genera alteración en el intercambio iónico, en especial en la bomba de sodio/potasio, que causa lisis y muerte celular.

Anfotericina B.



La anfotericina B sigue siendo un fármaco de elección en diversas micosis sistémicas graves que ponen el riesgo la vida, debido a su amplio espectro y bajas tasas de resistencia frente a la mayoría de hongos levaduriformes, filamentosos patógenos y oportunistas. En la actualidad existen cuatro clases de anfotericinas disponibles en el mercado: anfotericina B desoxicolato, anfotericina B lipídica, anfotericina B liposomal y anfotericina B de dispersión coloidal.

Formulaciones de Anfotericina B.

Tipo	Desoxicolato	Complejo Lipídico	Liposomal	Dispersión coloidal.
Espectro de acción.	Levaduras: <i>Candida spp.</i> , <i>C. neoformans</i> y <i>Rhodotorula spp.</i> , Hongos dimorficos y bifásicos: <i>C. immitis</i> , <i>H. capsulatum</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> , <i>Aspergillus spp.</i> y <i>Zygomycetes</i> .	Levaduras: <i>Candida spp.</i> , <i>C. neoformans</i> y <i>Rhodotorula spp.</i> , Hongos dimorficos y bifásicos: <i>C. immitis</i> , <i>H. capsulatum</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> .	Levaduras: <i>Candida spp.</i> , <i>C. neoformans</i> y <i>Rhodotorula spp.</i> , Hongos dimorficos y bifásicos: <i>C. immitis</i> , <i>H. capsulatum</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> .	Levaduras: <i>Candida spp.</i> , <i>C. neoformans</i> y <i>Rhodotorula spp.</i> , Hongos dimorficos y bifásicos: <i>C. immitis</i> , <i>H. capsulatum</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> .

		<i>Aspergillus spp.</i> y <i>Zygomycetes.</i>	<i>Aspergillus spp.</i> y <i>Zygomycetes.</i>	<i>Aspergillus spp.</i> y <i>Zygomycetes.</i>
Indicaciones	Micosis profundas, candidiasis invasivas, criptococosis, histoplasmosis, mucormicosis, esporotricosis hemat6gena	El mismo que la formulaci3n anterior	El mismo que para las otras formulaciones. Es m1s activa frente a aspergilosis y diversos agentes de la mucormicosis.	El mismo que para las formulaciones anteriores
Presentaci3n	Inyectable. Constituida por: Anfotericina B 50mg. Dexocicolato de sodio: 41 mg. Buffer de fosfato de sodio: 20mg	Intravenosa. El contenido se debe diluir en una soluci3n de dextrosa al 5%.	Intravenosa. Debe ser reconstituida adiconando 12 mL de agua inyectable al liofilizado (50mg) para obtener una concentraci3n final de 4mg/mL	Intravenosa. Viales de 50 y 100mg. Reconstituir con 10-20 mL de agua est6ril y diluir en una soluci3n glucosada 5% para obtener concentraci3n final de 0.6mg/mL
Dosis	Ni1os: 0.1-0.5 mg/Kg al d1a.	5mg/Kg al d1a	3- 5mg/Kg al d1a	3-4 mg/Kg al d1a.
Contraindicaciones	Pacientes con da1o real y hep1tico. Hipersensibilidad a la f3rmula.	Insuficiencia renal severa e hipersensibilidad a la f3rmula.	Hipersensibilidad a la f3rmula.	Hipersensibilidad a la f3rmula.
Efectos colaterales	Agudos: Fiebre, escalofr1os, alteraci3n en la presi3n arterial, tromboflebitis e insuficiencia respiratoria. Cr3nicos: Nefrotoxicidad, anemia, trombocitopenia y hepatotoxicidad.	Los mismos que para la formulaci3n anterior.	Los mismos que para las formulaciones anteriores. Alteraciones electrol1ticas (perdida de potasio y magnesio)	Los mismos que para las formulaciones anteriores.
Interacciones medicamentosas	F1rmacos que aumentan los efectos nefrot3xicos: aminogluc3sidos y ciclosporina. F1rmacos que aumentan la hipopotasemia: Digit1licos, relajantes musculares y antiaritmicos	Los mismos que para la formulaci3n anterior	Los mismos que para la formulaci3n anterior	Los mismos que para la formulaci3n anterior
Observaciones	<i>C.lusitaniae</i> posee resistencia intr1nseca a la Anfotericina B.	La nefrotoxicidad es menos frecuente que con la f3rmula tradicional	Presenta menos nefrotoxicidad.	Eleva la concentraci3n de creatinina en sangre y leucocitos en comparaci3n con las otras formulaciones.

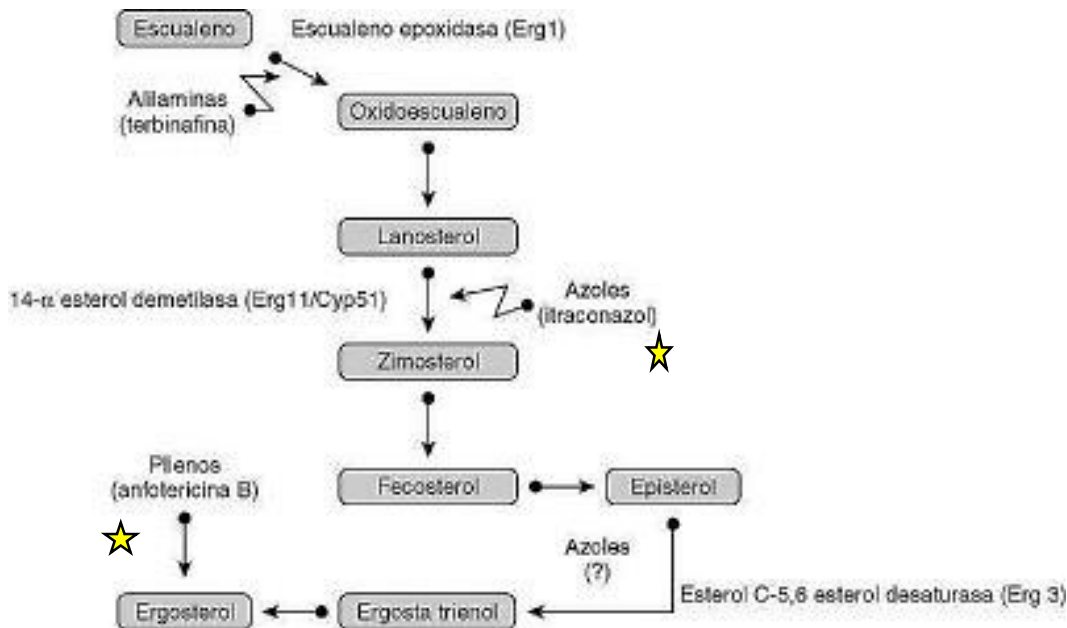


Figura 2. Pasos de la síntesis de ergosterol y el nivel de acción de los antifúngicos azólicos y polienos.⁽⁸⁾

4.5.2 Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos.

Fluorocitosina.

Es una pirimidina fluorada de origen sintético.

Mecanismo de acción.

Es fungistático y fungicida (solo *in vitro*). Su mecanismo de acción es a través de la conjugación de una serie de enzimas hasta formar un antimetabolito que interfiere con el RNA fúngico y por ende, con la síntesis de proteínas y, en menor grado, con la replicación de DNA. Ingresa dentro de la célula fúngica por medio de la citosina-permeasa, presente en algunos hongos y no en los humanos (por lo que genera poca toxicidad); dentro del núcleo se transforma por medio de la citosina-desaminasa en 5-fluorouracilo, después en 5-fluorouridina-trifosfato: este último es el antimetabolito que se incorpora al RNA, lo cual provoca una alteración y bloqueo de la síntesis de proteínas.

Espectro de acción.	- Hongos levaduriformes: <i>Candida spp.</i> y <i>C. neoformans</i> . - Hongos filamentosos: <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Fonseca pedrosoi</i> , <i>Phialophora verrucosa</i> y <i>Cladophialophora spp.</i>
Indicaciones	Candidosis sistémica o diseminada, criptococosis meníngea, aspergilosis invasiva y cromoblastomycosis.
Presentación	Tabletas de 500mg, así como en solución inyectable.
Dosificación.	La dosis recomendada es de 100-150 mg/Kg al día. En los casos de insuficiencia renal, la dosis se puede ajustar dependiendo de la depuración de creatinina entre 35-75 mg/Kg al día.
Contraindicaciones	En pacientes con daño hepático y renal.
Efectos colaterales	<ul style="list-style-type: none"> - Náuseas, vómito, diarrea y colitis. - Erupciones cutáneas y cefalea. - Su efecto colateral más grave, aunque raro, es la depresión medular, manifiesta con trombocitopenia y leucopenia.
Interacciones medicamentosas	- Se sabe que cuando se administra en forma conjunta con anfotericina B tiene un efecto sinérgico.

4.5.3 Inhibidores de la síntesis de la pared fúngica.

Antimicóticos de origen natural, obtenidos de diversos hongos y actinomicetos. Actúan a nivel de la pared celular y no de la membrana, este hecho es muy importante debido a que esta estructura es extraordinariamente rígida, da a los hongos sus principales características de resistencia y adaptación.

Mecanismo de acción.

Su composición básica es de hexapéptidos cíclicos. Son fungicidas, actúan inhibiendo la síntesis de la 1,3-β-glucana, principal componente de la pared celular de *Candida spp.* y *Pneumocystis jirovecii*, por tanto, su espectro se limita a este tipo de microorganismos.

Caspofungina.

Espectro de acción.	Fungicida para especies de <i>Candida</i> y fungistática para especies de <i>Aspergillus</i> .
Indicaciones	Candidemia y aspergilosis invasivas en pacientes no candidatos a otros antimicóticos, así como candidosis esofágica y tratamiento empírico en pacientes con fiebre y neutropenia.
Presentación.	Intravenosa: Viales de vidrio con 54.6mg o 75.6mg de caspofungina. Se debe administrar en solución salina, Ringer, o Hartmann.
Dosificación	De inicio administrar una dosis de carga de 70mg y continuar con dosis de mantenimiento de 50mg/día. Dosis pediátrica: 70mg/día de Dosis inicial y posteriormente 50mg/día de mantenimiento.
Contraindicaciones	Hipersensibilidad al fármaco.
Efectos colaterales	Cefalea, fiebre, flebitis en el sitio de infusión, náuseas y elevación reversible de las enzimas hepáticas.
Interacciones medicamentosas.	La administración con carbamacepina, fenitoína, fenobarbital y dexametasona disminuye la eficacia de la caspofungina; asimismo, esta puede disminuir los niveles séricos de tacrolimus hasta en 20%.
Observaciones.	No tiene actividad contra <i>C.neoformans</i> , <i>C. gattii</i> , <i>Trichosporon spp.</i> , <i>Fusarium spp.</i> , <i>Sporothrix schenckii</i> y <i>mucorales</i>

4.5.4 Mecanismos de resistencia.

Los antimicóticos actúan en diferentes sitios de la célula de los hongos, lo que afecta al crecimiento y supervivencia del mismo. Sin embargo, estos tienen la habilidad de inhibir la acción de estos fármacos. Este efecto es visible cuando se compara la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de diferentes aislamientos de la misma especie. Cuando la CMI aumenta es establecido la reducción de la susceptibilidad y el aumento de la resistencia. ⁽⁶⁾

Existen tres tipos de resistencia, dependiendo del origen de esta. Se define como **resistencia intrínseca** a la que se observa antes de que el microorganismo sea expuesto al antifúngico *in vitro*. Un ejemplo de este tipo de resistencia es *C.krusei* con respecto al fluconazol.

Se habla de **resistencia primaria** cuando una cepa perteneciente a una especie normalmente sensible al antifúngico, posee una resistencia natural al mismo sin la necesidad de haber estado en contacto con el compuesto. Un ejemplo son algunas cepas de *C.albicans* con respecto a la fluorocitosina⁽⁴⁾.

La **resistencia secundaria** o adquirida se desarrolla por la exposición al antifúngico, generada por la adaptación del microorganismo o por las alteraciones genéticas que presente.

Este último fenómeno ha sido bien documentado en pacientes con VIH que reciben azoles por el tratamiento de candidiasis orofaríngea y en pacientes con trasplantes de medula ósea que son tratados con fluconazol para candididasis invasiva.

La consecuencia clínica de la resistencia a los antifúngicos puede verse en la falla del tratamiento y cambios en la prevalencia de especies de hongos levaduriformes que causan enfermedad.

Mecanismos de resistencia a antifúngicos.

En términos generales, los mecanismos identificados hasta ahora, por lo que una célula inicialmente sensible se hace resistente son:⁽⁸⁾

- Incapacidad del fármaco para alcanzar la diana dentro de la célula, que puede ser debida a la existencia de barreras de permeabilidad o a sistemas de bombeo activo del compuesto al exterior.
- Cambios en la interacción fármaco-diana (aumento del número de copias de la diana o modificaciones debido a mutaciones).
- Modificaciones en las enzimas de las vías metabólicas.
- Alteraciones en el procesamiento intracelular (degradación o modificación) del fármaco.

Familia	Mecanismo de acción	Mecanismo de resistencia.	Efectos
Azoles	Bloqueo de la síntesis de ergosterol, actúan a nivel de la 14- α -esterol desmetilasa, generando disminución de ergosterol en la membrana fúngica.	Alteración en la composición de la enzima 14- α -esterol desmetilasa por mutaciones del gen ERG11	Disminución de la afinidad del antifúngico por la enzima
		Reducción de las concentraciones del antifúngico dentro de la célula del hongo por aumento de bombas de eflujo. Ejemplos: ABC (CDR1 Y CDR2) MIF (MDR1) resistencia a fluconazol.	La acción antifúngica disminuye por la baja concentración del fármaco dentro de la célula
Polienos.	Adhesión a los esteroides de la membrana fúngica	Modificaciones en la membrana fúngica. Disminución de ergosterol y aumento de fosfolípidos en la membrana	El antifúngico no actúa por no reconocer a su diana.
Inhibidores de la síntesis de ácidos nucleicos.	Formación de un antimetabolito que interacciona con la síntesis de RNA.	Disminución de la acción de la enzima citosina-permeasa y citosina desaminasa	No se forma el antimetabolito de la 5-fluorocitosina, por lo que pierde su acción antifúngica.
Inhibidores de la pared fúngica.	Inhibición de la síntesis de la enzima 1,3- β -glucana, que actúa en la síntesis de glucano.	Cambios en la composición de la enzima por mutaciones en los genes FKS1 Y FKS2	No hay reconocimiento de la diana en el sitio de infección.

4.6 Infecciones causadas por hongos oportunistas.

Definición.

En las dos últimas décadas se ha observado un aumento de las infecciones fúngicas oportunistas, en especial en pacientes inmunocomprometidos, con enfermedades de base severas, terapias prolongadas o con factores predisponentes al desarrollo de estas infecciones.

Las micosis oportunistas se definen como afecciones producidas por hongos que se comportan como saprofitos o comensales del hombre, que forman parte de la microbiota en piel, mucosas, tracto digestivo o respiratorio. Estos hongos ante determinadas oportunidades que les ofrece el

hospedador, al disminuir su capacidad defensiva pueden colonizar, infectar y producir enfermedad ⁽¹⁵⁾. Dentro de las micosis oportunistas se encuentran:

- Candidiasis.
- Aspergilosis.
- Mucormicosis.
- Infecciones por hongos levaduriformes diferentes al género *Candida spp.* como: *Trichosporon spp.*, *Cryptococcus neoformans*, *Rhodotorula spp.*, *Saccharomyces spp.*, etc.

Las micosis oportunistas, a diferencia de las causadas por hongos patógenos primarios son cosmopolitas y la edad, sexo y profesión no son causas predisponentes de importancia.

4.6.1 Factores predisponentes.

En pacientes pediátricos las infecciones fúngicas invasivas por esta clase de hongos constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad incluyendo a pacientes neonatos, niños y adolescentes con enfermedades hematológicas, trasplante de células troncohematopoyéticas (TCPH), entre otros.

Aunque los niños y adultos tienen vulnerabilidad similar a este tipo de infecciones, existen diferencias significativas en ambas poblaciones. Entre ellas destacan, el estado inmunológico, los efectos adversos de los antifúngicos que se utilizan para el tratamiento y la farmacocinética de los medicamentos que se dan para los diversos padecimientos que afectan a este tipo de pacientes. ^(14,15)

El hongo y el hospedero deben cumplir con factores predisponentes para causar la infección. Algunos de ellos son:

Condiciones del hongo.

- Soportar una temperatura de 37°C o más.
- Realizar un cambio morfológico, casi siempre con tendencia a la reducción.
- Factores de virulencia propios del hongo que favorezcan la adaptación fúngica.
- Contacto con el hospedero.

Condiciones del hospedero

Factores que afectan principalmente a pacientes neonatos.

- Bajo peso al nacer (prematurez).
- Inmadurez del sistema inmunológico.
- Estructura epitelial inmadura.

Factores que afectan a niños, adolescentes y adultos.

- Enfermedades de base grave.
- Sida
- Inmunodeficiencias primarias o adquiridas.
- Neutropenia.
- Leucemias y linfomas en quimioterapia.
- Radioterapia.
- Síndrome de malnutrición crónica.
- Trasplante de medula ósea y órganos sólidos (renales y hepáticos principalmente)
- Tratamiento esteroideo y citotóxico prolongado.
- Antibioticoterapia de amplio espectro.
- Colonización previa.
- Catéteres y nutrición parenteral.
- Hospitalización prolongada.

4.7 Características del género *Candida spp.*

Candida spp. es uno de los principales géneros que se relaciona con infecciones fúngicas invasivas en pacientes con factores de predisposición. En condiciones normales, se encuentra como parte de la microbiota habitual del cuerpo como es el tracto gastrointestinal (boca, laringe y faringe) y mucosas genitales. En vías respiratorias altas y urinarias se encuentran con frecuencia. Este tipo de infecciones se presentan en todas las edades y afecta a ambos sexos por igual. ⁽⁵⁾

De las cerca de 200 especies que se conocen de este género, solo el 10% provocan infecciones en las personas. ⁽⁹⁾

Las infecciones causadas por *Candida spp.* son de las más frecuentes que se presentan en el mundo. Un reporte realizado en Europa sobre la prevalencia de Infecciones Nosocomiales en Pacientes Críticos (EPIC) mostró que de 10,038 pacientes admitidos en unidades de cuidados intensivos, 1417 contrajeron candidiasis invasiva, representando el 17% del total de infecciones adquiridas.⁽⁹⁾

De todas las infecciones que produce *Candida spp.*, la candidemia representa del 10-20%: datos de 790 unidades de terapia intensiva de 300 instituciones del NNIS (Surveillance National Nosocomial Infections) en los Estados Unidos mostraron que entre 1990-1999 el género *Candida spp.* fue responsable del 5-10% del total de infecciones en sangre. Esto la ubica en el cuarto lugar como agente causal, precedida de estafilococos coagulasa negativa, *S.aureus* y enterococos.⁽⁹⁾

Entre 1980 y 1990 la incidencia de infecciones fúngicas severas causadas por *Candida spp.* reportada por 115 hospitales del NNIS incremento de 2.09 a 3.8 episodios por cada 1000 admisiones.⁽⁹⁾

Las infecciones se pueden clasificar en tres grupos, dependiendo de la severidad de estas. Estos son: Hematógenas, superficiales y profundas.

Clasificación de las formas clínicas de las infecciones por *Candida spp.* ⁽⁹⁾

Hematógenas	Superficiales	Profundas.
Candidemia.	Candidiasis cutánea.	Candidiasis esofágica.
Edoftalmítis	Candidiasis orofaríngea	Cistitis
Infecciones causadas por acceso vascular (Ejemplo. Infección por catéter venoso central CVC).	Vaginitis	Peritonitis
Tromboflebitis séptica	Balanitis	Bronquitis.
Endocarditis infecciosa		
Artritis		
Osteomielitis		
Meningitis.		
Pielonefritis		
Candidiasis pulmonar		
Candidiasis hepatoesplénica.		

Solo diez especies de *Candida spp.* son de interés clínico. En un estudio realizado en México por Gonzalez y Cols (2008) sobre las especies que más se aíslan como agentes causales de candidemia en hospitales de Monterrey se obtuvo que de los 398 casos reportados 151 casos fueron causados por *C.parapsilosis*, 127 *C.albicans*, 59 *C.tropicalis* y 32 casos por *C.glabrata*. En menor proporción *C.krusei* 11 casos, *C.guilliermondii* 5 casos y 13 por especies raras como *C.famata* y *C.lusitaniae*.

Principales especies del genero *Candida spp.* de interés clínico e infecciones que causan.⁽⁹⁾

Especies	Infecciones que producen.
<i>Candida albicans</i>	Mucocutáneas: Candidiasis orofaríngea, esofagitis vaginitis. Pielonefritis, peritonitis, candidemia, meningitis.
<i>Candida parapsilosis</i>	Candidemia (principalmente en pacientes neonatos), infecciones asociadas con soluciones contaminadas y dispositivos implantados.
<i>Candida tropicalis</i>	Candidemia en pacientes inmunosuprimidos.
<i>Candida glabrata</i>	Candidiasis sistémica, candidemia e infecciones del tracto urinario.
<i>Candida krusei</i>	Candidemia, endoftalmitis.
<i>Candida dubliniensis</i>	Candidiasis orofaríngea en pacientes con VIH
<i>Candida guilliermondii</i>	Candidiasis sistémica, endocarditis
<i>Candida kefyr</i>	Candidiasis sistémica
<i>Candida lipolytica</i>	Candidemia asociada a catéter venoso
<i>Candida lusitaniae</i>	Candidemia e infecciones diseminadas

4.7.1 Aspectos microbiológicos del género *Candida spp.*

Los hongos levaduriformes que forman parte del género de *Candida spp.* se describen como blastoconidios con ausencia de pigmentos (melánicos y carotenoides); forma celular variable, es decir, las células pueden ser elípticas, globosas, cilíndricas y triangulares; tienen pared celular con dos capas; su reproducción es por gemación holoblastica o blastoconidios y pueden formar pseudohifas e hifas (con excepción de *C.glabrata*).

En la clasificación actual se les ordena dentro del tipo de levaduras ascosporadas. Las especies oportunistas más frecuentes no presentan estados teleomórficos; sin embargo, por su genética están más relacionados con el género *Saccharomyces spp.*, siendo *C.glabrata* la especie más cercana. ⁽⁵⁾.

Taxonomía del género *Candida*.

Clase	<i>Ascomycetes</i>
Subclase	<i>Hemiascomycetes</i>
Orden	<i>Saccharomycetales</i>
Familia	<i>Saccharomycetes</i>
Género	<i>Pichia, Hansenula, Arxiozyma (estados teleomórficos)</i>
Especies	<i>Los estados anamórficos se les denomina Candida y los ejemplos más importantes son: C.albicans, C.glabrata, C.tropicalis, C.parapsilosis, C.dublinsiensis.</i>

A nivel celular, el género *Candida spp.* posee una pared compuesta principalmente de polisacáridos y proteínas. Entre los polisacáridos destacan la quitina, el glucano y el manano o el galactomanano. El manano es el polisacárido que constituye la pared de las especies de *Candida spp.* Las proteínas generalmente están asociadas a polisacáridos formando glicoproteínas. ⁽¹²⁾

La membrana citoplasmática es rica en esteroides y en el citoplasma existen mitocondrias, retículo endoplásmico, y flujo citoplasmático. También poseen membrana nuclear y núcleo definido.

4.7.2 Métodos de identificación.

Características macroscópicas y microscópicas.

Macroscópicamente, las colonias de *Candida spp.* son elevadas, globosas de color crema a amarillentas. Dependiendo de la especie, la textura puede ser pastosa, suave, brillante o seca, arrugada y sin brillo. En cuanto a las características microscópicas todas producen blastoconidios que pueden ser redondos o elongados. La mayoría produce pseudohifas (a excepción de *C.glabrata*) que pueden ser largas, ramificadas o curvas. ⁽¹⁰⁾

Identificación por pruebas bioquímicas.

Medios cromogénicos.

Están diseñados para el aislamiento e identificación de algunas especies del genero *Candida spp.* tras su incubación 30-37°C durante 24-48h.

El fundamento se basa en la detección de diversas actividades enzimáticas por parte de los hongos levaduriformes por medio de la hidrólisis específica de un sustrato cromogénico en presencia de un indicador de la enzima. Una de las principales ventajas de estos medios es diferenciar fácilmente los cultivos mixtos.

Estos medios pueden ser utilizados como medios de aislamientos primarios o con fines de identificación en los medios de cultivo convencionales. ⁽¹⁰⁾

Aspecto en medio CHROMagar de las especies de *Candida* de importancia clínica. ⁽¹¹⁾

Especies	Aspecto de las colonias en medio CHROMagar.
<i>Candida albicans</i>	Verde esmeralda
<i>Candida parapsilosis</i>	Rosa claro
<i>Candida tropicalis</i>	Azul rosado con halo alrededor
<i>Candida glabrata</i>	Lila mate
<i>Candida krusei</i>	Rosa claro, rugosa, borde extendido
<i>Candida dubliniensis</i>	Verde oscuro
<i>Candida guilliermondii</i>	Rosa claro, brillantes
<i>Candida kefyr</i>	Beige
<i>Candida lipolytica</i>	Blanco rosado, rugosas
<i>Candida lusitanae</i>	Lila brillantes

Identificación basada en métodos de asimilación de nutrientes.

Auxonograma convencional: Se fundamenta en la aplicación por separado de diferentes nutrientes, hidrocarbonados o nitrogenados, sobre un medio sintético base para apreciar el crecimiento selectivo de un hongo levaduriforme en la cercanía de los nutrientes necesarios para su desarrollo. ⁽¹⁰⁾

Galería API ID32.

Está compuesta por diferentes pruebas de asimilación y por una base de datos especialmente adaptada. Permite identificar 63 especies de organismos levaduriformes o relacionados y puede ser utilizada manualmente o de una forma automatizada. La galería se compone de 32 cúpulas: 29 contienen cada una un sustrato carbonado deshidratado, una es el control negativo, otra detecta la sensibilidad a la cicloheximida y la última es una prueba colorimétrica para la esculina ⁽²⁰⁾.

El hongo levaduriforme a estudiar se pone en suspensión en un medio semi-sólido. Después de 24-48h de incubación el crecimiento en cada cúpula se lee de manera automatizada o manual.



Galería sistema API ID32.

Rapid Yeast Identification Panel Microscan.

Es un método automatizado para la identificación rápida de 40 especies de hongos levaduroformes y otros microorganismos afines. Se basa en la utilización de pruebas convencionales y cromogénicas en una placa de microdilución de 96 pocillos que utiliza 27 sustratos deshidratados. Se rehidran los sustratos con una suspensión concentrada de la levadura en agua esterilizada. Se obtiene la identificación después de una incubación 35-37°C durante 4 horas.

Fundamento reacciones de identificación Microscan. ⁽¹⁹⁾

Sustratos aminoácido-naftilamida (HPR,ILE, PRO TYR,GLY,GGLY,GLAR, GLRP,AARG, LYAL,ALA,STY,HIS): Cuando la enzima (generalmente un aminoácido arilamidasa) correspondiente hidroliza al sustrato, se libera β -naftilamida. Esta última se detecta añadiendo p-dimetilamino-cianamaldehído (en el reactivo **peptidasa**) que produce un complejo de color rosa-púrpura. Una sola arilamidasa puede hidrolizar diversos aminoácidos β -naftilamida.

Carbohidratos (SUC1, SUC2,TRE): La utilización de sacarosa o trealosa produce un descenso en el pH. El indicador rojo clorofenol cambia de púrpura a amarillo. Estas reacciones de carbohidratos son selectivas.

Sustratos Nitrofenilo (AGL1, BGL, BGAL, AGL2, BDF, AGAL, NAG, CELL, NGAL): Si está presente la enzima correspondiente, el sustrato es escindido liberando orto o paranitrofenol. A pH alcalino estos compuestos son amarillos. Si la reacción tiene lugar en medio ácido debe añadirse **NaOH** después de la incubación para poder leer los resultados.

Indoxil Fosfatoso (IDX): El indoxil fosfato es escindido mediante una fosfatasa para liberar indoxilo. Este se combina con el oxígeno para formar un precipitado insoluble azul o azul-gris.

Urea (URE): La ureasa escinde a la urea formando amoníaco y dióxido de carbono. El amoníaco (en forma de carbonato amónico) produce un aumento del pH que se detecta por el rojo de fenol que vira de amarillo a rojo.



Lector Autoscan



Microplaca Microscan.

4.7.3 Susceptibilidad antifúngica.

Los antifúngicos de elección para el tratamiento de infecciones causadas por las diversas especies de *Candida spp.* son los azólicos principalmente, seguidos de Anfotericina B para el tratamiento de infecciones severas y como en último lugar los antifúngicos nuevos como las equinocandinas y la fluorocitosina⁽⁵⁾. No obstante, no todas las especies se comportan de la misma manera frente a estos fármacos. En los últimos años se han observado casos de resistencia en algunas especies ya sea por ser intrínsecamente resistente al antifúngico (*C.krusei* y *C.glabrata* que presentan resistencia o dosis dependencia al Fluconazol o *C.lusitaniae* que es resistente a la Anfotericina B) o por la adquisición de resistencia secundaria, debido a la implementación de terapia profiláctica. La profilaxis basada en los triazoles fue generalizada en 1980 dirigida a pacientes que por su diagnóstico su sistema inmunológico estaba comprometido, tales como quimioterapia, trasplante de medula ósea y pacientes con VIH y SIDA.⁽⁹⁾

Susceptibilidades de las diversas especies de *Candida spp.* a varios antifúngicos.⁽⁹⁾

Especie	Fluconazol	Itraconazol	Voriconazol	Posaconazol	Caspofungina	Fluocitosina	Anfotericina B
<i>C.albicans</i>	S	S	S	S	S	S	S
<i>C.tropicalis</i>	S	S	S	S	S	S	S
<i>C.parapsilosis</i>	S	S	S	S	S	S	S
<i>C.glabrata</i>	S-DD-R	S-DD-R	S	S	S	S	S-I
<i>C.krusei</i>	R	S-DD-R	S	S	S	I-R	S-I
<i>C.lusitaniae</i>	S	S	S	S	S	S	S-R

Abreviaturas: S (sensible); DD(Dosis Dependiente); I (Intermedio); R(Resistente).

Aunque, *C.albicans* ha sido el principal agente causal de candidiasis, el uso de terapia profiláctica ha causado que otras especies vayan ganando importancia clínica, tales como *C.glabrata* y *C.krusei*, lo que ha generado dificultades en el tratamiento. En el estudio realizado por Gloria M. Gonzalez y Cols (2008)⁽¹³⁾ al determinar las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI's) de los diversos aislados de *Candida spp.* se presentaron casos de resistencia. Un aislado de *C.albicans* fue resistente al Fluconazol al obtener una CMI $\geq 64.0 \mu\text{g/mL}$, mientras que para *C.glabrata* 10 aislados mostraron resistencia al fluconazol, 5 dosis dependencia (CMI 16.0-32.0 $\mu\text{g/mL}$) y 9 a anfotericina B con CMI's $\geq 2.0 \mu\text{g/mL}$.

4.8 Características del género *Trichosporon spp.*

El género de *Trichosporon spp.* es un hongo levaduriforme que en los últimos 20 años ha ganado importancia clínica al ser considerado la segunda levadura causante de micosis invasivas principalmente en pacientes neutropénicos, con enfermedades hematológicas, trasplantados, con VIH y bajo tratamiento con corticoesteroides. ⁽¹⁶⁾

Trichosporon spp. generalmente se encuentran en sustratos ambientales y madera descompuesta. Forman parte de la microbiota comensal intestinal en el ser humano y coloniza de manera transitoria la piel y vías respiratorias. La trichosporonosis es una micosis causada por diversas especies oportunistas del género *Trichosporon spp.*, las formas cutáneas (superficiales) por lo general son ocasionadas por *T.cutaneum* (antes clasificado como *T.beigelii*), mientras que las infecciones profundas y sistémicas son producidas por *T.asahii* y *T.mucoides*. ^(5, 16,17)

Sus manifestaciones clínicas son muy variables, es el principal agente causal de la piedra blanca. Otras infecciones en las que está involucrado son: onicomycosis, otomicosis y queratitis micótica, cuadros cutáneos similares a candidiasis o geotricosis, o bien lesiones maculopapulares inespecíficas; sin embargo, las formas clínicas más importantes son: neumonía e infiltrados pulmonares, endocarditis, encefalitis, afección renal y fungemia.

Las infecciones invasivas por *Trichosporon spp.* son precedidas, comúnmente, por una colonización respiratoria o gastrointestinal y con frecuencia se asocian al uso de catéter central. Se ha aislado desde abscesos (cerebral, hepático), infecciones de prótesis y diálisis. ⁽¹⁷⁾

Se han podido identificar alrededor de 36 especies del género, de las cuales alrededor de seis tienen significado clínico.

Especies de *Trichosporon* y tipo de infecciones. ⁽⁵⁾

Especie	Tipo de infección.
<i>T.asahii</i>	Infecciones sistémicas
<i>T.asteroides</i>	Cutáneas
<i>T.cutaneum</i>	Cutáneas, piedra blanca en cabeza
<i>T.inkin</i>	Piedra blanca en genitales
<i>T.mucooides</i>	Infecciones sistémicas
<i>T.ovoides</i>	Piedra blanca.

4.8.1 Aspectos microbiológicos del género *Trichosporon spp.*

El género *Trichosporon spp.* ha sido recién clasificado como un género de hongos levaduriformes del tipo *Basidiomycetes*, aunque la mayoría de los hongos no presentan estados teleromórficos o sexuados. Su posición taxonómica se basa en sus características genéticas y están íntimamente emparentadas con el género *Cryptococcus spp.* . El género *Trichosporon spp.* abarca una gran cantidad de especies, sin embargo, muchas de ellas no toleran altas temperaturas, por lo que las especies patógenas para el hombre se reducen a seis. Debido a la dificultad en la clasificación del género aún persisten muchas comunicaciones con diversos nombres; sin embargo, algunos autores insisten en incluir a diversas especies que afectan a los pelos a un complejo que denominan *Trichosporon cutaneum*. ^(5,16)

4.8.2 Métodos de identificación.

Características macroscópicas y microscópicas.

Microscópicamente, el género *Trichosporon* se caracteriza por la habilidad de formar blastoconidios, artroconidios, hifas y pseudohifas

Macroscópicamente, las colonias se desarrollan en promedio entre cinco y ocho días; las colonias en Agar Saboraud Dextrosa (ADS) son de aspecto levaduriforme, con rangos de color que van de blanco a crema; con el pasar del tiempo muestran aspectos particulares como forma cerebriforme.

Taxonomía del género *Trichosporon spp.*

División	<i>Basidiomycota</i>
Clase	<i>Tremellomycetes</i>
Subclase	<i>Tremellales</i>
Orden	<i>Trichosporonales</i>
Familia	<i>Trichosporonaceae</i>
Género	<i>Trichosporon</i>
Especies	<i>Asahii, asteroides, cutaneum, dermatis, domesticum, inkin, jirovecii, loubieri, montevidennse, mucoides, ovoides, japonicum, coremiiforme y faecale.</i>

Identificación por pruebas bioquímicas.

La identificación bioquímica de las diferentes especies de *Trichosporon spp.* es usualmente difícil, con problemas de reproducibilidad y precisión. Algunas pruebas incluyen asimilación de diversos carbohidratos como L-arabinosa, sorbitol, melobiosa y mio-inositol, crecimiento a 37°C, crecimiento en presencia de cicloheximida 0.01%, formación de apresorias (ramificaciones irregulares unidas a la estructura celular) y degradación de la urea, la cual es una prueba que lo diferencia de *Geotrichum spp.*

Actualmente existen kits manuales y para equipos automatizados disponibles en el mercado. La galería de API ID32 es capaz de identificar entre tres especies diferentes de este género (*T.inkin*, *T.asahii* y *T.mucoides*), mientras que en el caso del Chromagar la morfología colonial que se observa es de colonias blancas con halo azul, de aspecto cerebriforme.

Para la identificación precisa de las especies cada vez más se utilizan métodos basados en técnicas moleculares tales como la amplificación o secuenciación de regiones específicas del ADN ribosomal de *Trichosporon spp.* ⁽¹⁷⁾

Características bioquímicas y de crecimiento de las especies del género *Trichosporon spp.* de interés clínico.⁽⁵⁾

Pruebas	<i>T.asahii</i>	<i>T.cutaneum</i>	<i>T.inkin</i>	<i>T.asteroides</i>	<i>T.mucoides</i>	<i>T.ovoides</i>
L-arabinosa sorbitol	+	+	-	+	+	V
Melibiosa	-	+	-	-	+	-
Mio-inositol	-	+	-	-	+	-
Desarrollo a 37°C	-	+	+	+	+	-
o.1% cicloheximida	+	-	+	V	+	V
Apresorias	+	-	V	V	-	+

(+)Positivo; (-) negativo; (V) variable.

4.8.3 Susceptibilidad antifúngica.

A pesar de que el género *Trichosporon spp.* ha alcanzado gran importancia como agente causal de infecciones fúngicas todavía no se tiene una terapia antifúngica exitosa para el tratamiento de las infecciones que produce.

Se han realizado pocos estudios acerca de la susceptibilidad que presenta *in vitro* a los antifúngicos de uso convencional en la clínica. Las dificultades para la identificación de las especies han repercutido en el hecho de no poder estandarizar las condiciones para las pruebas de susceptibilidad. El documento M27-A del CLSI no incluye al género *Trichosporon spp.*; sin embargo, es posible adaptar la metodología de manera exitosa para identificar la susceptibilidad de las diferentes especies de este género.⁽¹⁶⁾

A pesar de esta problemática varios autores han sugerido algunos puntos acerca de la susceptibilidad del género. Por ejemplo, que *T.asahii* es más resistente a la anfotericina B y más sensible a los triazoles en comparación con otras especies.

Hoy en día los antifúngicos que se utilizan en el ámbito clínico son el voriconazol, posaconazol, anfotericina B y fluconazol, ya sean solos o en combinación.⁽¹⁸⁾

5. MATERIAL Y MÉTODOS.

Se aislaron un total de 178 cepas provenientes de muestras diversas de pacientes del Instituto Nacional de Pediatría en un periodo de tiempo de Junio del 2014 a Junio del 2015 de los géneros *Candida spp.* y *Trichosporon spp.* Las metodologías que se utilizaron se dividen en dos apartados: el primero corresponde al aislamiento y tipificación del hongo levaduriforme y el segundo a la determinación de los patrones de susceptibilidad de este. Para esta última se tomaron en cuenta los siguientes criterios de inclusión: Examen directo positivo (presencia de pseudohifas y/o blastoconidios), aisladas de muestras como: Orina, líquido cefalorraquídeo (**LCR**), líquidos corporales (peritoneal, pleural, etc.), cavidad bucal (**CB**), exudados (faríngeo y vaginal), escamas de piel, fragmento de uñas (**FRU**), hemocultivos, aspirados bronquiales y nasofaríngeos (**AB**, **ANF**), Líquido Broncoalveolar (**LBA**), biopsias y expectoraciones; Unidades formadoras de colonias (UFC/ mL) en orina ≥ 1000 , diagnóstico base y cepas con baja frecuencia de aislamiento.

MATERIALES.

1.0 Aislamiento y tipificación de hongos levaduroformes.

AISLAMIENTO.

Material biológico.

- Muestras biológicas obtenidas de pacientes.

Medios de cultivo.

- Agar Saboraud Dextrosa (**ADS**). Tubos de 16x150mm.
- Agar Saboraud con Cloranfenicol (**ACS**). Tubos de 16x150mm y cajas 100x15mm.
- Agar Micosel. Tubos de 16x150mm
- Agar Alpiste negro. Tubos de 16x150mm.

Reactivos.

- Hidroxido de potasio (KOH) 20%.
- Azul de lactofenol.

Material de laboratorio.

- Tubos falcón.
- Asa calibrada 10 μ L
- Portaobjetos.
- Cubreobjetos.
- Jeringas.
- Agujas.
- Pipetas pasteur.
- Mechero.

Equipos de laboratorio.

- Incubadora de 28°C.
- Centrifuga.
- Microscopio.

TIPIFICACIÓN.**Identificación parcial del hongo levaduriforme.****Material biológico.**

- Levaduras aisladas de muestras biológicas.

Medios de cultivo.

- Medio cromogénico CHROMagar cajas de 100x15mm.

Material de laboratorio.

- Asa bacteriológica.
- Mechero.

Equipos de laboratorio.

- Incubadora de 37°C.

Pruebas bioquímicas:

- **MICROSCAN.**

Material biológico.

- Levaduras de 24h/37°C en agar ADS.

Reactivos.

- Agua de inóculo 3.0 mL.
- Estándar de turbidez escala 2.0 Mc.farland.
- Peptidasa.
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Microplaca con sustratos a reconstituir.

Material de laboratorio.

- Asa bacteriológica.
- Micropipeta de 50-200 µL.
- Mechero.

Equipos de laboratorio.

- Incubadora 37°C
- Lector AUTOSCAN.

- **API ID32.**

Material biológico.

- Levaduras de 24h/37°C en agar ADS.

Reactivos.

- Agua suspensión 2.0 mL.

- Estándar de turbidez escala 2.0 Mc.farland.
- Medio de inóculo 7.0 mL.
- Galería con sustratos a reconstituir.

Material de laboratorio.

- Asa bacteriológica.
- Micropipeta de 100-1000 µL.
- Mechero

Equipos de laboratorio.

- Incubadora 28°C.

2.0 Prueba de Susceptibilidad a Antifúngicos.

- **SENSITITRE.**

Material biológico.

- Levaduras de 24h/37°C en agar ADS.

Reactivos.

- Agua de suspensión (desmineralizada) 5.0mL
- Estándar de turbidez escala 0.5 Mc.farland.
- Medio de inóculo RPMI con glucosa 2%
- Microplaca de con antifúngicos a reconstituir.

Material de laboratorio.

- Asa bacteriológica.
- Micropipeta de 5-50µL y micropipeta multicanal de 100-300 µL.
- Mechero

Equipos de laboratorio.

- Incubadora 35°C.
- Campana de seguridad nivel 2.
- Nefelómetro.

- Vortex

MÉTODOS.

En los siguientes diagramas se explican las metodologías utilizadas, para el aislamiento, tipificación y determinación de susceptibilidad para los hongos levaduriformes aislados.

Diagrama 1: Describe las metodologías a seguir para el aislamiento de levaduras procedentes de diferentes muestras: Orina, LCR, líquidos corporales (peritoneal, pleural, etc.), CB, exudados (faríngeo y vaginal), escamas de piel, FRU, hemocultivos, AB, ANF, LBA, biopsias y expectoraciones.

En términos generales, a todas las muestras se les realizó cultivos en medios que favorecen el crecimiento de hongos y Examen Directo (**ED**), el cual consiste en observar estructuras del hongo (en el caso de hongos levaduriformes pseudohifas y blastoconidios) que sean sugerentes a un proceso infeccioso.

Para el caso especial de LCR se realiza examen con tinta china para búsqueda de hongos levaduriformes cápsulados (*Cryptococcus spp.*).

En el caso de hemocultivos, la sangre primeramente se cultivó en un frasco con medio bifásico, el cual se mantuvo en incubación y agitación constante en un sistema automatizado (BATEC). Al salir un hemocultivo positivo, el equipo indicó la presencia de este, y posteriormente se procedió a realizar ED y resiembras.

Diagrama 2: Se explican las metodologías a seguir para la tipificación de hongos levaduriformes. Como primera prueba se utilizan medios cromogénicos (CHROMagar) el cual permite identificar a *C.albicans* y frecuentemente a *C.tropicalis*. Aquellas que no se pueden identificar por este medio, se utiliza la prueba de identificación rápida MICROSCAN. En caso de que el porcentaje de identificación sea $\leq 95\%$ se utiliza la prueba de API ID32.

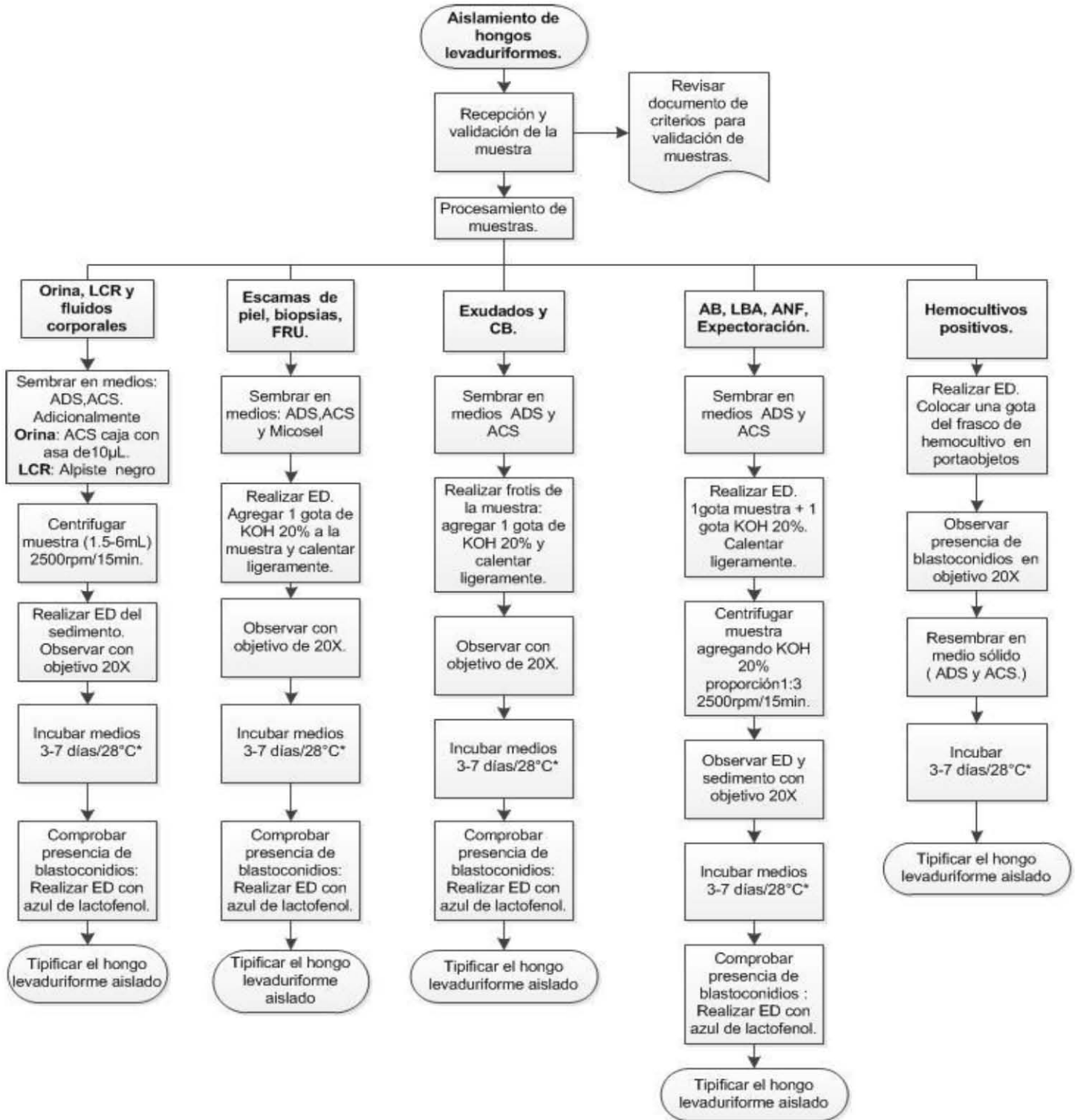
En el caso de la prueba de MICROSCAN, es importante que el lector sea calibrado cada que se corran las lecturas.

Diagrama 3: Se explica la metodología para la prueba de susceptibilidad por el método comercial de microdilución en caldo **SENSITITRE**. En esta prueba el hongo levaduriforme se enfrenta a ocho antifúngicos con diferentes rangos de concentración en µg/mL.

Antifúngico	Rango de concentración (µg/mL)
Posaconazol (PZ)	0.008-8.0
Anfotericina B (ANFOB)	0.008-16.0
Fluconazol (FZ)	0.12-256
Itraconazol (IZ)	0.008-16.0
Ketoconazol (KZ)	0.008- 16.0
Fluorocitosina (FC)	0.03-64
Voriconazol (VOR)	0.008-16.0
Caspofungina (CAS)	0.008-16.0

Para el control de calidad se utilizaron las cepas *Candida krusei* ATCC 6258 y *Candida parapsilosis* ATCC 22019.

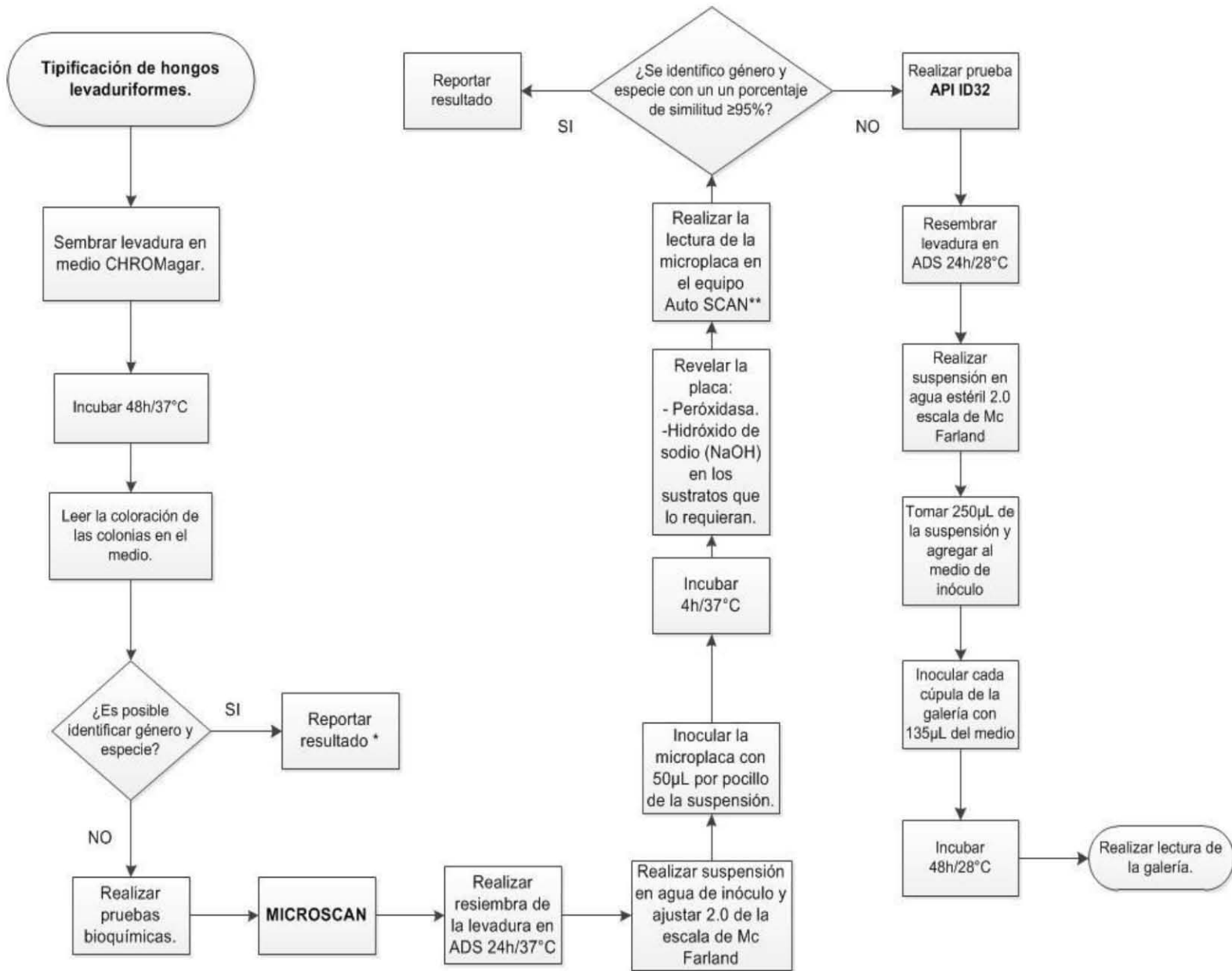
Diagrama 1. Metodologías para el aislamiento de hongos levaduriformes de muestras clínicas diversas.



Abreviaturas.

- ADS: Agar Sabraud Dextrosa. CB: Cavidad Bucal.
- ACS: Agar Sabraud Cloranfenicol AB: Aspirado Bronquial.
- ED: Examen directo. LBA: Lavado Broncoalveolar.
- KOH: Hidróxido de Potasio ANF: Aspirado nasofaríngeo.

Diagrama 2. Metodologías para la tipificación de hongos levaduriformes.

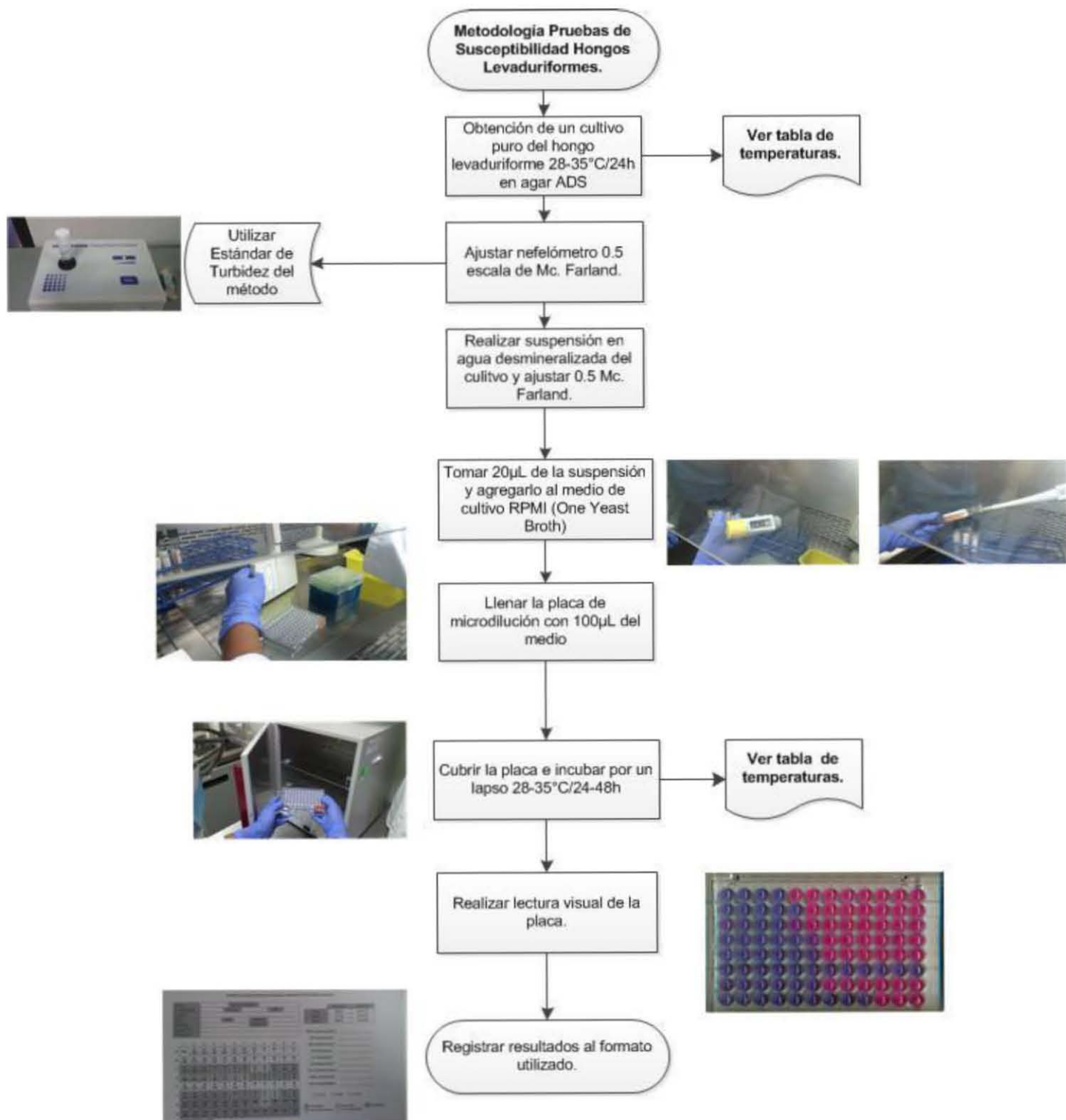


Abreviaturas.

(*) Aplicable solo para *C.albicans* y en menor frecuencia *C.tropicalis*.

(**) Antes de realizar la lectura es necesario calibrar el equipo.

Diagrama 3. Metodología prueba de Susceptibilidad Antifúngica (SENSITITRE) en hongos levaduriformes.



Temperaturas y tiempos de incubación de las especies de los géneros *Candida spp.* y *Trichosporon spp.* para las pruebas de susceptibilidad antifúngica.

Levadura	Temperatura y tiempo de incubación (cultivo)	Temperatura y tiempo de incubación (microplaca)
<i>C.albicans</i>	24h/35°C	24h/35°C
<i>C.parapsilosis</i>	24h/28°C	48h/28°C
<i>C.glabrata</i>	24h/35°C	24h/35°C
<i>C.tropicalis</i>	24h/35°C	24h/35°C
<i>C.krusei</i>	24h/35°C	24h/35°C
<i>C.guilliermondii</i>	24h/28°C	48h/28°C
<i>C.lusitaniae</i>	24h/28°C	48h/28°C
<i>Trichosporon spp.</i>	24h/28°C	48h/28°C

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

6.1 Aspectos clínicos.

En este estudio se incluyeron un total de 165 pacientes, de los cuales el 57% (94) pertenecieron al género masculino y el 43% (71) al género femenino. El rango de edad fue de <1-17 años, siendo el valor <1año el más frecuente (n=30), seguido del valor de 1 año (n=15) y 17 años (n=12).

En cuanto a mortalidad y morbilidad, hasta el término del estudio un total de 118 pacientes (72%) se encontraban vivos, 32 (19.4%) fallecidos de los cuales 24 (75%) estuvieron relacionadas al género *Candida spp.*, 6 (18.8%) al género *Trichosporon spp.* y 2 (6.3%) estuvieron relacionadas a infecciones mixtas causadas por ambos géneros. El 15 (9.0%) no se encontraron los expedientes en archivo clínico.

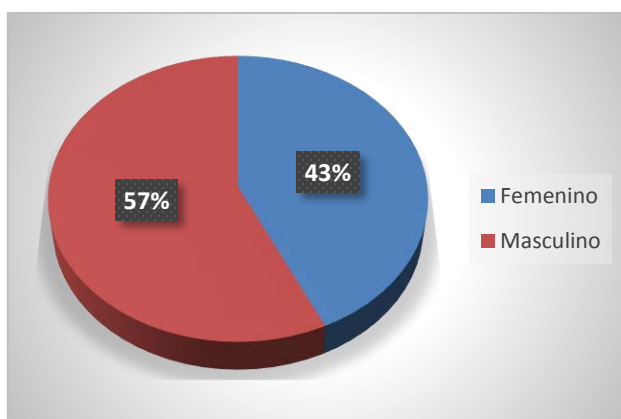


Gráfico 1. Distribución del sexo en la población estudiada.

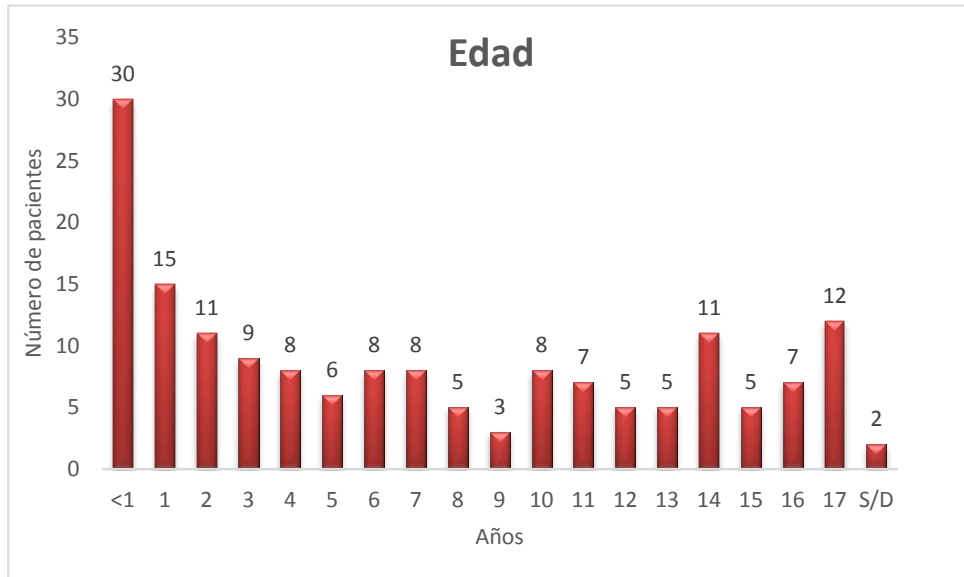


Gráfico 2. Distribución de la edad en la población de estudio.

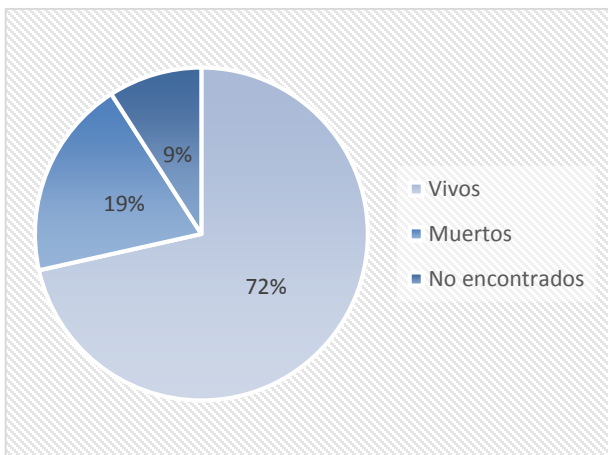


Gráfico 3. Mortalidad y Morbilidad.

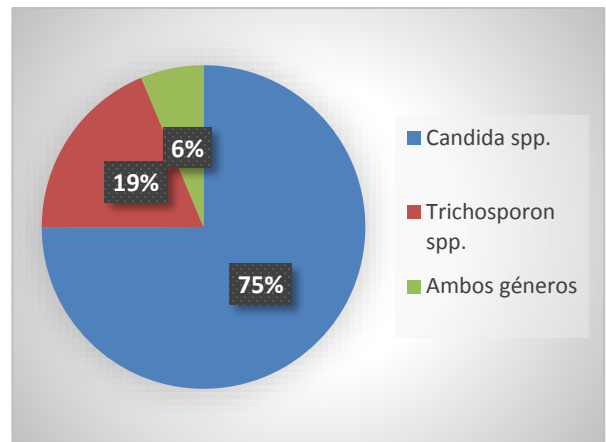


Gráfico 4. Distribución de la mortalidad por géneros.

De los servicios con los que cuenta el Instituto, fue el de Infectología en el que se obtuvieron la mayor cantidad de aislados positivos (n=27), seguido por el servicio de Oncología (n=23) y Hematología (n=16).

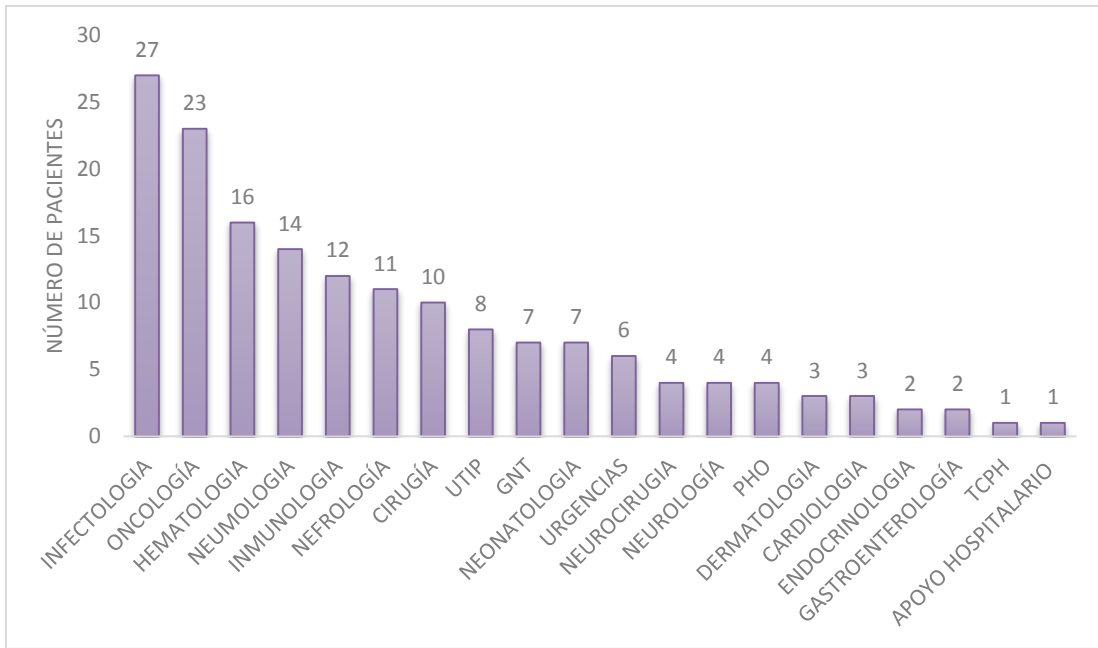


Gráfico 5. Distribución de la población de estudio por Servicio Hospitalario.

Se analizaron un total de 200 muestras de las cuales, la orina fue la de mayor frecuencia 49% (n=98), seguido de Cavidad bucal 15% (n=30) y Hemocultivo 11.5% (n=23)

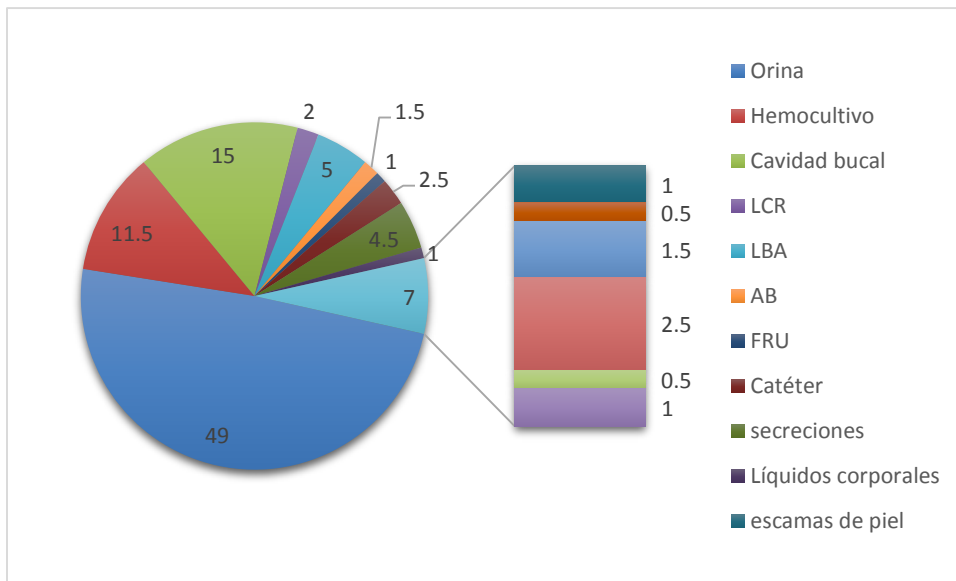


Gráfico 6. Muestras.

En el caso de los diagnósticos base, fueron las enfermedades congénitas (algunos ejemplos son: Fibrosis Quística, Síndrome de Apert, Síndrome de Coffin, entre otras) las que se

presentaron con mayor frecuencia (24%), seguidas de inmunodeficiencias (17%), cáncer en tejidos sólidos (13%) y leucemias (11%).

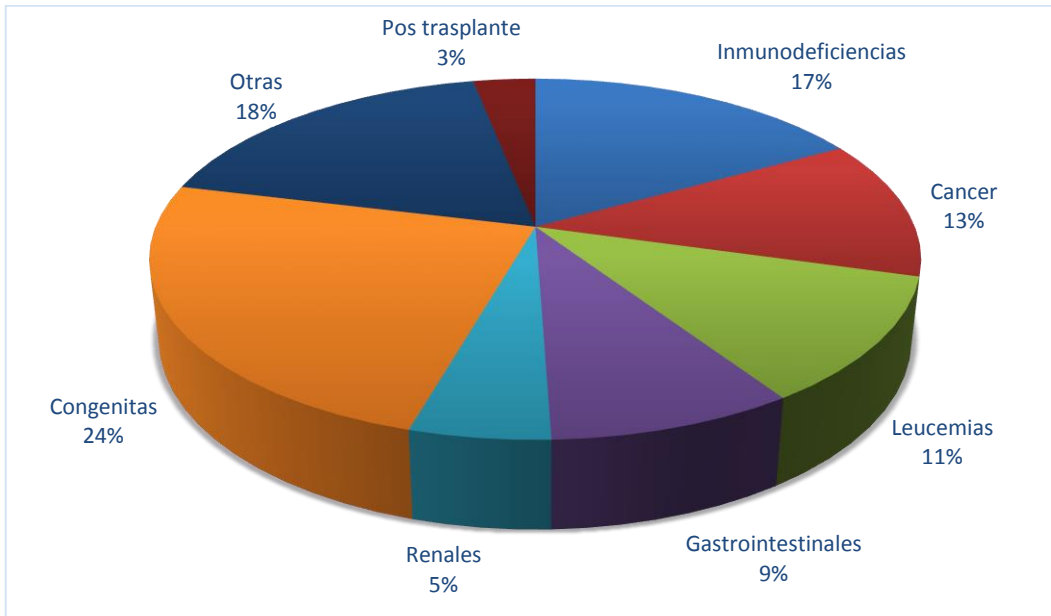


Gráfico 7. Diagnósticos base de la población pediátrica.

Las infecciones fúngicas que se presentaron con mayor frecuencia fueron: Infección de vías urinarias (IVU) 38% (n=39), seguida de Candidiasis orofaríngea 23% (n=24) y sepsis 21% (n=22).

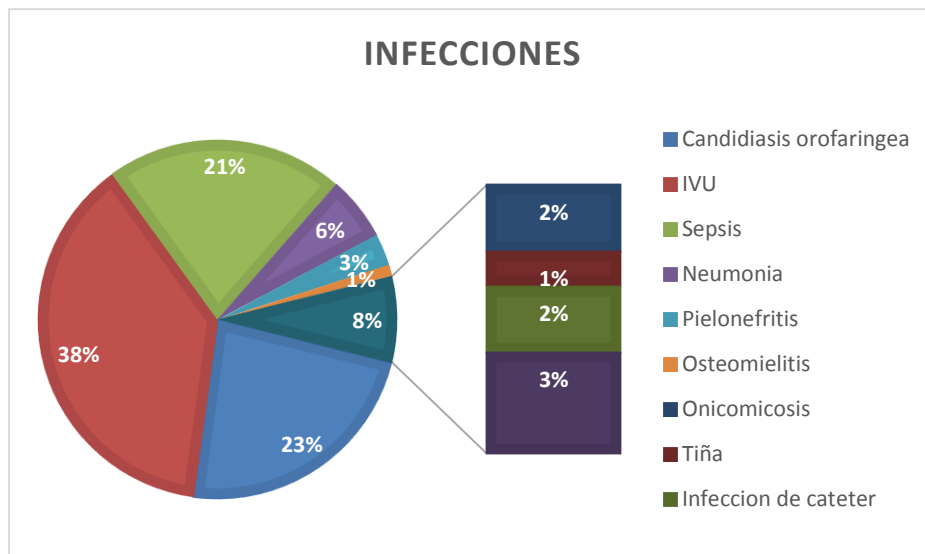


Gráfico 8. Distribución de las infecciones fúngicas.

Entre los factores de riesgo más frecuentes, se encontraron: Antibioticoterapia (n=69), seguido de uso de catéter (n=63) y pacientes con neutropenia (n=34).

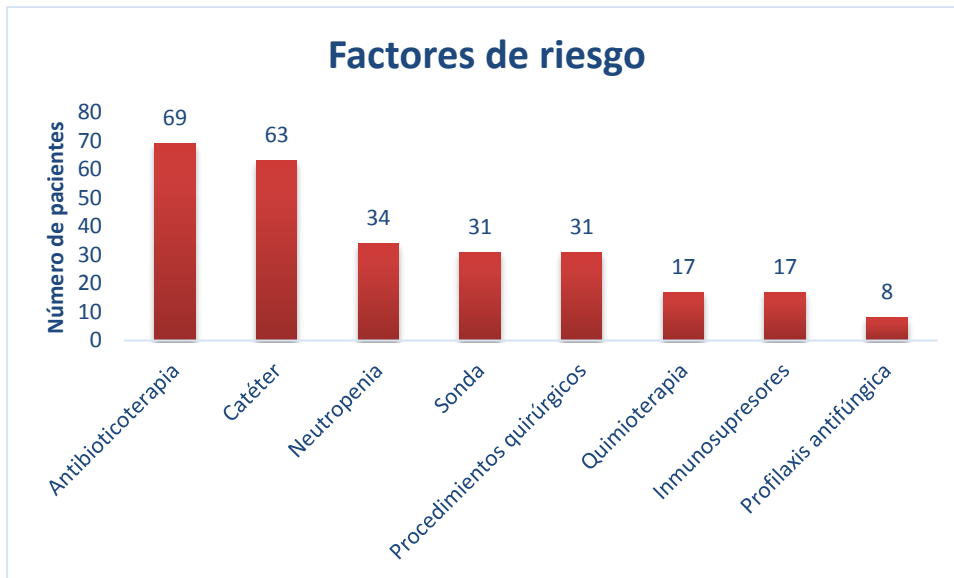


Gráfico 9. Principales factores de riesgo.

De acuerdo a los resultados obtenidos, aunque existe un ligero aumento en pacientes del género masculino con respecto al femenino, que presentaron algún tipo de infección fúngica, estas no son exclusivas de algún género en particular como se ha reportado anteriormente ⁽⁵⁾.

En el caso de la edad, al ser un estudio encaminado exclusivamente a la población pediátrica, son los pacientes menores a un año los que presentan mayor riesgo de adquirir una infección por hongos. Una de las causas más importantes que generan susceptibilidad en este sector de la población es el proceso de maduración del sistema inmunológico ⁽¹⁴⁾.

En este tipo de pacientes, el sistema inmunológico no ha madurado completamente, por lo que los mecanismos de defensa tales como quimiotaxis y fagocitosis que están encaminados para la erradicación de agentes patógenos, se encuentran ausentes o están disminuidos.

Por otra parte, en pacientes de 17 años, a pesar de que tienen un sistema inmunológico maduro, la mayoría presenta diagnósticos base como son cáncer (tejidos sólidos y leucemias) e inmunodeficiencias, que disminuye la acción inmunológica, ya sea por el propio diagnóstico o

por el tratamiento que se les da como lo son las quimioterapias y utilización de inmunosupresores.

La mortalidad por hongos levaduriformes del genero *Candida spp.* suele ser menor con respecto a infecciones por hongos filamentosos como *Aspergillus spp.* De los 165 pacientes que formaron parte del estudio, se obtuvo un 19% de defunciones. Aunque se ha reportado que los pacientes menores de un año son los que representan la mayor tasa de mortalidad ^(22,21), en nuestro estudio la edad no representó un factor determinante, sino el diagnóstico base. De acuerdo a esto último, los pacientes con leucemia son los que representaron la mayor mortalidad.

Infectología, fue el servicio que generó mayor cantidad de aislamientos, seguido de Oncología, Hematología e Inmunología, coincidiendo con los factores de riesgo más frecuentes (Antibioticoterapia, utilización de catéter y la presencia de neutropenia).

Estos resultados tienen relación entre sí. En primer lugar, estos servicios hospitalarios están involucrados con los diagnósticos que son de mayor mortalidad como se vió anteriormente. El uso de inmunosupresores y la quimioterapia, generan estados de neutropenia, que es uno de los principales factores predisponentes para que se generen infecciones por cepas de *Candida no albicans* y por levaduras de otros géneros como *Trichosporon spp.*, además, en este estado, no se genera una respuesta al tratamiento antifúngico, por lo que pacientes con este tipo de padecimiento suelen tener pronósticos poco alentadores.

El uso de catéter, aunque su utilización no es exclusivo de estos servicios, son los más invasivos, pues la mayoría son del tipo catéter venoso central (CVC) y son de los principales factores externos que generan infección por bacterias y hongos, en la mayoría de las ocasiones por el mal manejo que se les da a este tipo de dispositivos.

La antibioticoterapia, está altamente relacionada con el tratamiento profiláctico. A pesar de que esta terapia ayuda a disminuir las posibilidades de adquirir una infección por bacterias, aumenta la posibilidad de adquirir una infección por hongos. Al dar este tipo de tratamiento por tiempos prolongados las bacterias que forman parte de la microbiota habitual también disminuyen, por lo que aumenta la población de hongos en el organismo. Tal es el caso de *C.albicans*, que es

parte de la microbiota habitual además de otros géneros que son transitorios o se obtienen por medios físicos como catéteres y sondas.

Los diagnósticos base más frecuentes fueron enfermedades congénitas, inmunodeficiencias, cáncer y leucemias. Si bien, las enfermedades congénitas no son un factor de predisposición por parte del hospedero, si están relacionadas con factores de riesgo externos, como lo son el uso de catéteres, sondas, antibioticoterapia y procedimientos quirúrgicos que pueden dar lugar a infecciones fúngicas a pesar de que el paciente este inmunológicamente sin ningún tipo de alteración.

De acuerdo a lo que se observó, este tipo de pacientes contrajeron infecciones por factores externos y en su mayoría, tuvieron una recuperación exitosa con el tratamiento adecuado.

De las infecciones fúngicas más importantes se encontraron: Infección en vías urinarias (IVU), Candidiasis orofaríngea y sepsis. Las muestras que se trajeron al laboratorio con mayor frecuencia fueron: Orina, Cavidad Bucal y Hemocultivos.

6.2 Frecuencias de aislamiento de los géneros *Candida spp* y *Trichosporon spp*.

Se aislaron un total de 178 hongos levaduriformes pertenecientes a los géneros de *Candida spp.*(159) y *Trichosporon spp.*(19). De este total 2 a 3 especies estuvieron involucradas en infecciones mixtas.

Del género *Candida spp.* la cepa aislada con mayor frecuencia fue *Candida albicans* 56% (n=89), seguida de *Candida glabrata* 15% (n=24), *Candida tropicalis* 13% (n=20), *Candida parapsilosis* 11% (n=18); y en menor frecuencia *Candida krusei* 1.0% (n=2), *Candida guilliermondii* 2.0% (n=4), *Candida famata* (n=1) y *Candida lusitaniae* (n=1).

Del género *Trichosporon spp.* se pudieron identificar un total de 10 cepas, de las cuales el 26% (n=5) se identificaron como *Trichosporon inkin*, 16% (n=3) como *Trichosporon mucoides* y el 11% (n=2) como *Trichosporon asahii*.

Nueve cepas (47%) no pudieron identificarse por pruebas bioquímicas por lo que se dejaron como *Trichosporon spp.*

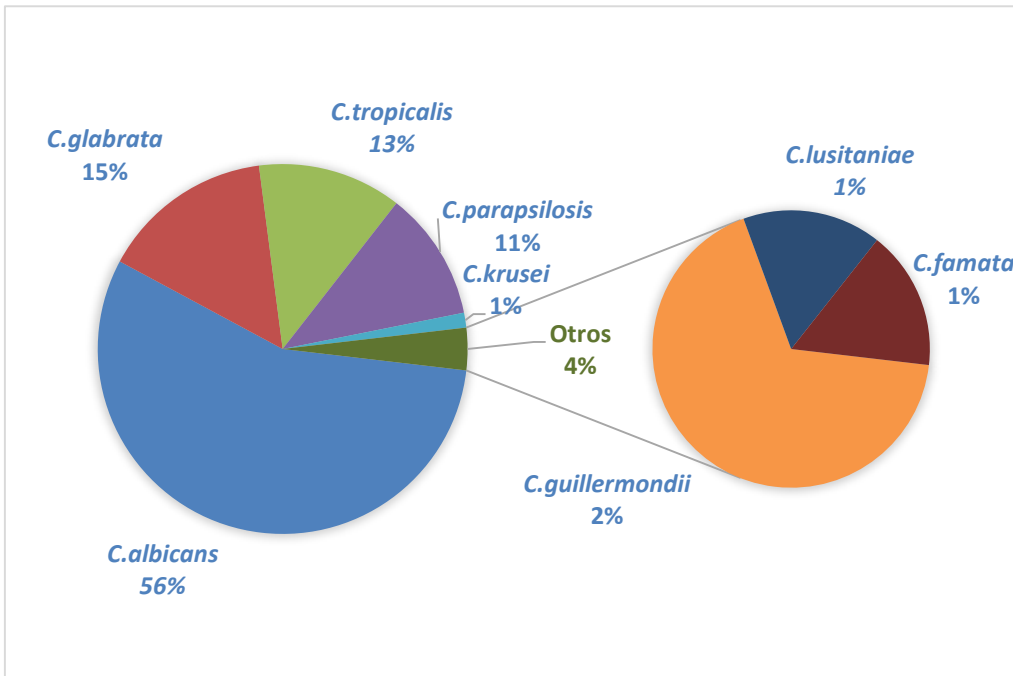


Gráfico 10. Frecuencias especies aisladas del género *Candida spp.*

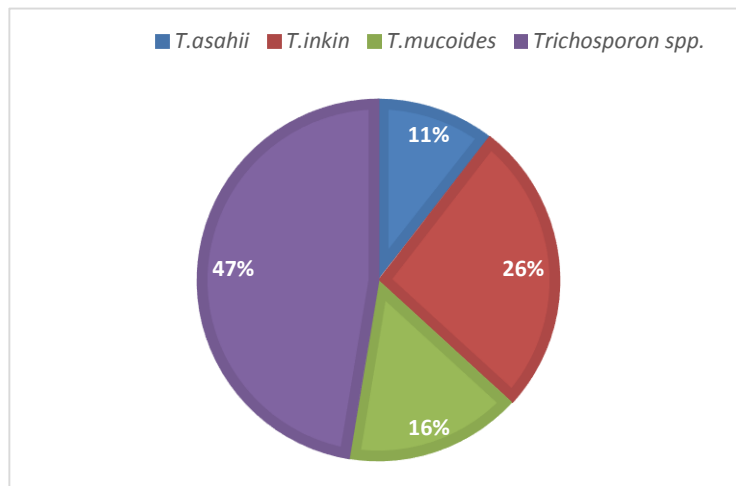


Gráfico 11. Frecuencia de las especies aisladas del género *Trichosporon spp.*

Las frecuencias de aislamiento para el género *Candida spp.* son similares a estudios realizados anteriormente^(22,23), en los cuales *C.albicans* ocupa el primer lugar, seguida de *C.glabrata*.

En el caso del género de *Trichosporon spp.* hay una diferencia de acuerdo a lo reportado para este género^(18,24). Si bien *T.asahii* es la especie que se aísla con mayor frecuencia como agente causal de infecciones sistémicas, en nuestro caso no se pudieron identificar todas las cepas, por lo que tomando en cuenta esta situación, la especie que se aisló con mayor frecuencia fue *T.inkin*; no obstante, el problema de utilizar pruebas bioquímicas para poder identificar a los microorganismos de este género radica en el hecho de que no se puede estar completamente seguro de que la cepa que se aísla pertenezca a la especie que indica la prueba, puesto que los resultados de las pruebas bioquímicas entre especies son muy parecidas.

En el estudio realizado por Rodriguez y Cols (2005), se pudieron identificar mayor cantidad de especies de *Trichosporon spp.* utilizando secuenciación de DNA que con métodos bioquímicos, atribuyendo esto último a la dificultad de interpretación de estas pruebas, igual que sucedió en nuestro estudio al tener como única prueba de identificación a API ID32.

6.3 Patrones de susceptibilidad de las especies del género *Candida spp.*

Antifúngicos sin puntos de corte establecidos.

Los siguientes antifúngicos (Posaconazol, Anfotericina B y Ketoconazol) no cuentan con puntos de corte establecidos por el documento M27-A del NCLSI, por lo que se determinaron los rangos y medias geométricas (**MG**) para cada especie. En el caso de las especies menos frecuentes se muestran las CMI donde se inhibió la cepa.

Posaconazol.

La mayoría son inhibidas a CMI de 1.0 µg/mL a excepción de *C.glabrata*, cuyo rango va de 0.5-2.0 µg/mL, con una media geométrica (MG) de 1.0µg/mL y *C.famata*, la cual sale del rango de concentraciones al tener una CMI >8.0µg/mL.

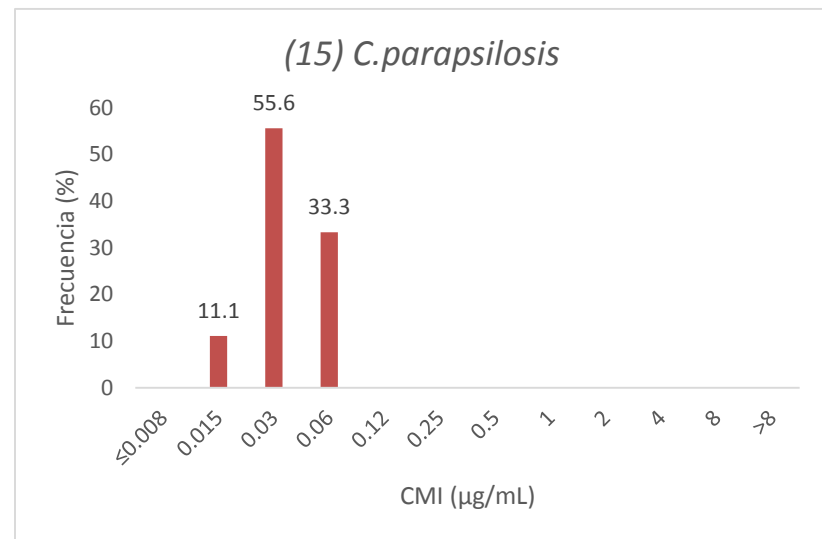
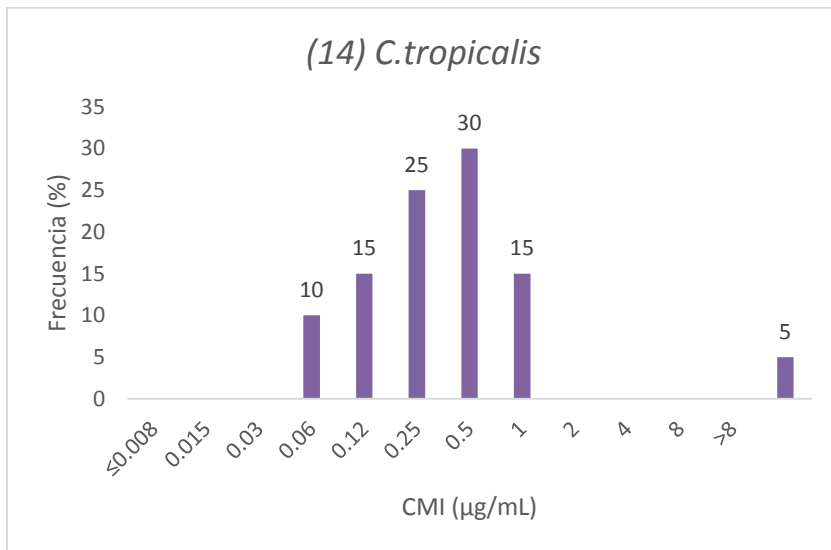
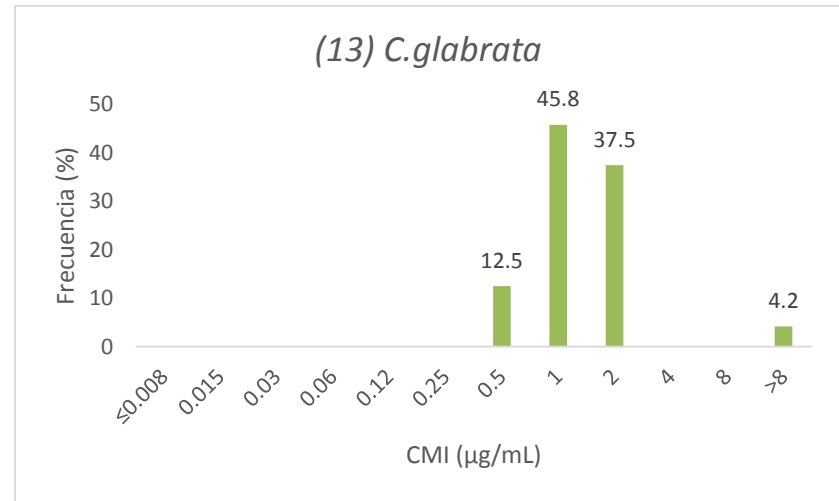
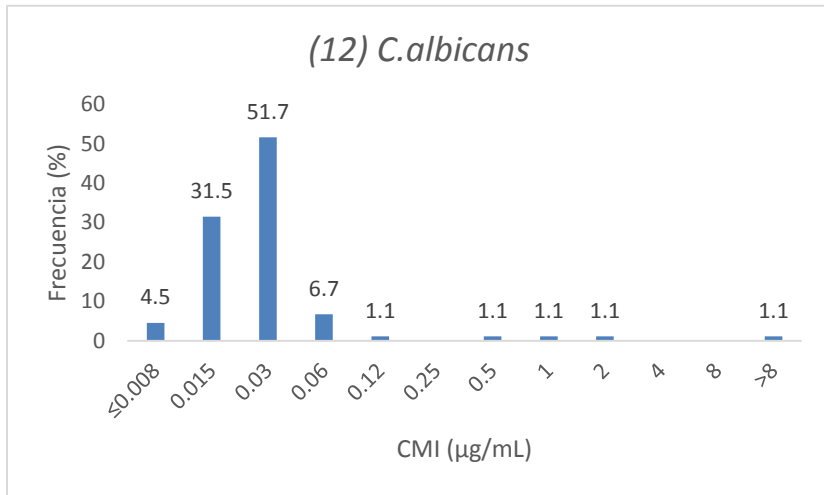
Tabla 1. Rangos y Medias Geométricas para las cepas más frecuentes del genero de *Candida spp.*

Posaconazol		
ESPECIE	RANGO (µg/mL)	MG (µg/mL)
<i>C.albicans</i> (89)	≤0.008-0.12	0.03
<i>C.glabrata</i> (24)	0.5-2.0	1.0
<i>C.tropicalis</i> (20)	0.06-1.0	0.25
<i>C.parapsilosis</i> (18)	0.015-0.06	0.03

Tabla 2. CMI's de las especies menos frecuentes del genero *Candida spp.*

Posaconazol	
Especie	CMI (µg/mL)
<i>C.krusei</i> (2)	0.25(1)
	0.5(1)
<i>C.guilliermondii</i> (4)	0.25 (1)
	0.5(3)
<i>C.famata</i> (1)	>8.0
<i>C.lusitaniae</i> (1)	0.03

Gráficos 12-15. Distribución de frecuencias en las diferentes CMI's para Posaconazol



Anfotericina B.

Las cepas más frecuentes se inhiben a una CMI que va de 1.0 µg/mL, a excepción de *C.albicans* y *C.tropicalis* donde la mayor frecuencia de los aislamientos de estas especies se inhibe a una CMI de 0.5 µg/mL. Solo un aislamiento de *C.guilliermondii* fue el que obtuvo una CMI de 2.0 µg/mL.

Tabla 3. Rangos y Medias geométricas para las cepas más frecuentes del género de *Candida spp.*

Anfotericina B		
Especie	Rango (µg/mL)	MG (µg/mL)
<i>C.albicans</i> (89)	0.12-2.0	0.5
<i>C.glabrata</i> (24)	0.5-2.0	1.0
<i>C.tropicalis</i> (20)	0.12-2.0	0.5
<i>C.parapsilosis</i> (18)	0.5-2.0	1.0

Tabla 4. CMI's de las especies menos frecuentes del genero *Candida spp.*

Anfotericina B	
Especie	CMI (µg/mL)
<i>C.krusei</i> (2)	1.0 (2)
<i>C.guilliermondii</i> (4)	1.0 (3)
	2.0 (1)
<i>C.famata</i> (1)	0.25
<i>C.lusitaniae</i> (1)	0.5

Ketoconazol.

Las CMI's para este antifúngico son muy variadas entre especies; sin embargo, es importante destacar que para la especie de *C.albicans* la mayor frecuencia se inhiben a una CMI ≤ 0.008 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

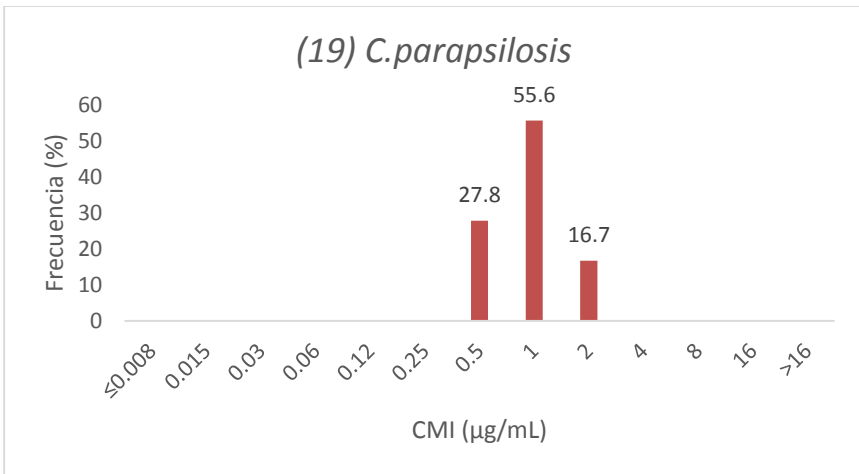
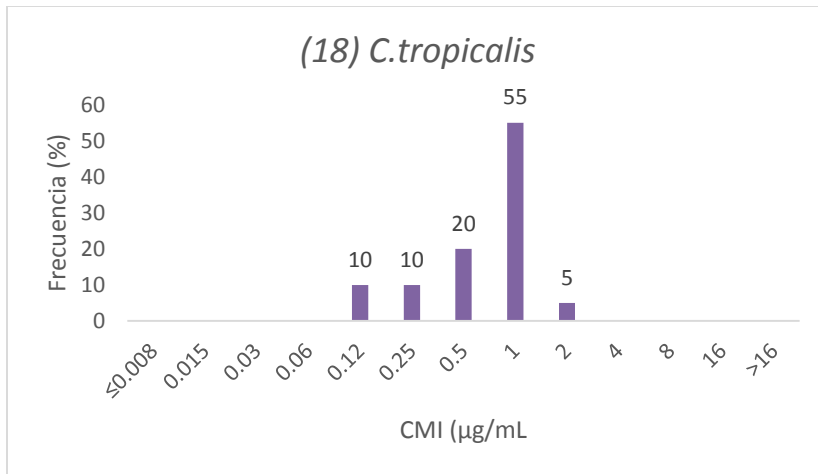
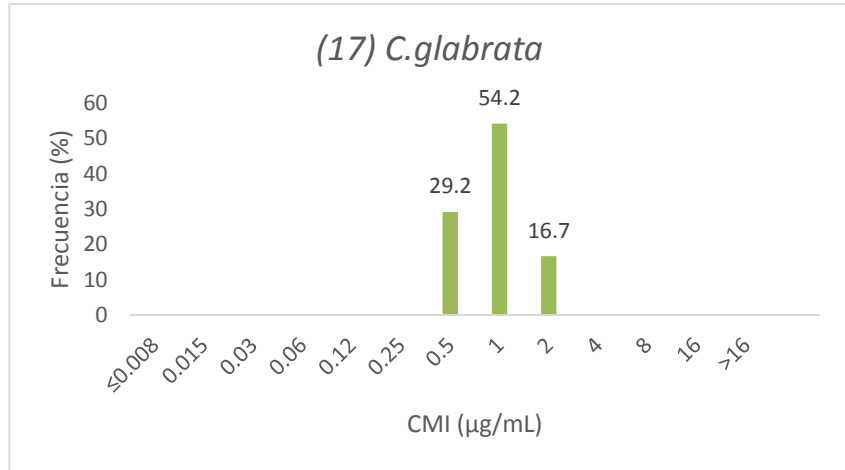
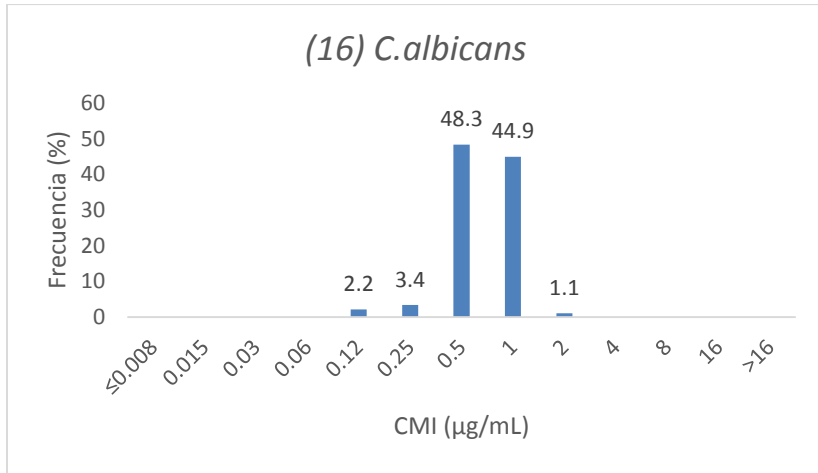
Tabla 5. Rangos y Medias geométricas para las cepas más frecuentes del genero de *Candida spp.*

Ketoconazol		
Especie	Rango ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	MG ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
<i>C.albicans</i> (89)	$\leq 0.008-0.015$	0.01
<i>C.glabrata</i> (24)	0.25-2.0	0.71
<i>C.tropicalis</i> (20)	0.03-0.5	0.12
<i>C.parapsilosis</i> (18)	$\leq 0.008-0.06$	0.022

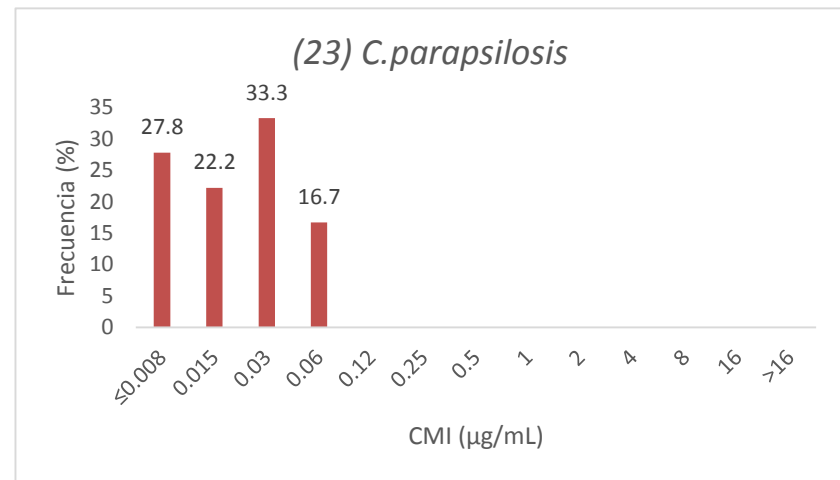
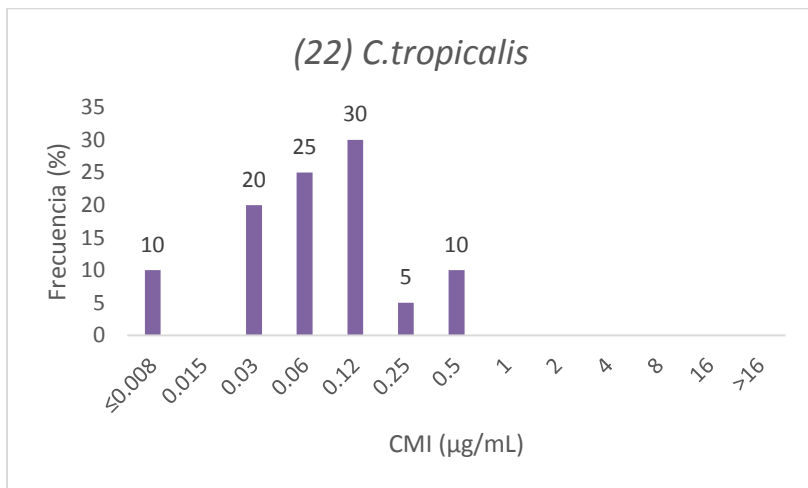
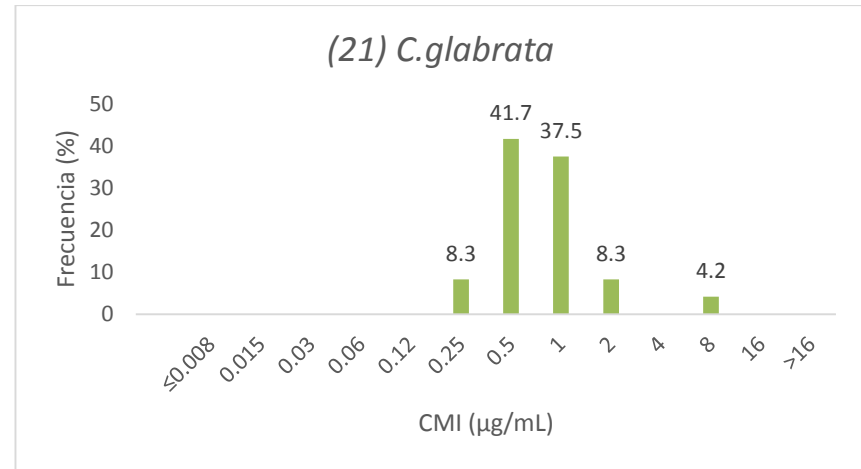
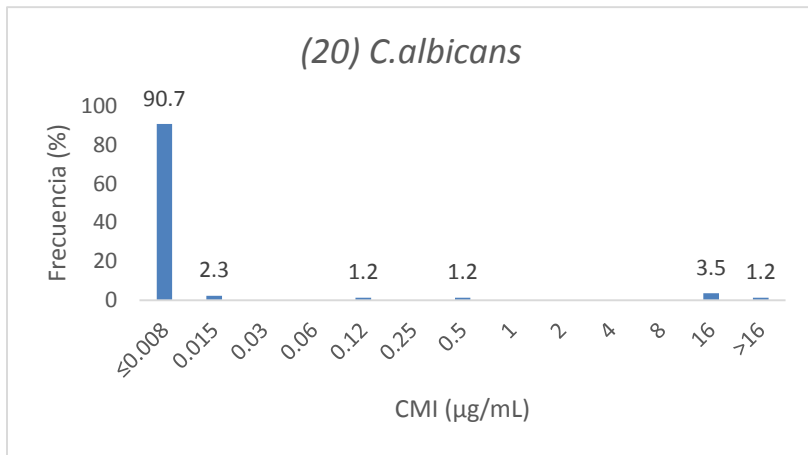
Tabla 6. CMI's de las especies menos frecuentes del genero *Candida spp.*

Ketoconazol	
Especie	CMI ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
<i>C.krusei</i> (2)	0.5 (1)
	1.0 (1)
<i>C.guillermundii</i> (4)	0.12 (2)
	0.25(1)
	0.5(1)
<i>C.famata</i> (1)	>16
<i>C.lusitaniae</i> (1)	0.12

Gráficos 16-19. Distribución de frecuencias en las diferentes CMI's para Anfotericina B.



Gráficos 20-23. Distribución de frecuencias en las diferentes CMI's para Ketoconazol.



Posaconazol.

De acuerdo a los resultados obtenidos, este antifúngico muestra rangos de inhibición bajos, para las especies más frecuentes del género *Candida spp.* (*C.albicans* [MG 0.03µg/mL], *C.tropicalis* [MG 0.25µg/mL], *C.parapsilosis* [MG 0.03µg/mL]); a excepción de *C.glabrata*, donde se obtuvo una MG de 1.0µg/mL. Estos resultados obtenidos coinciden con los reportados anteriormente por Ostrosky y Cols (2003) para la CMI₅₀ (*C.albicans* [0.03µg/mL], *C.glabrata* [1.0µg/mL], *C.tropicalis* [0.06µg/mL], *C.parapsilosis* [0.03µg/mL]). Si bien en este estudio, no se obtuvieron las CMI₅₀ y CMI₉₀, el tener resultados similares, implica que con la metodología que se utiliza en el laboratorio, para este antifúngico es posible que se estén obteniendo las CMI₅₀ de las especies evaluadas.

Para el caso de las especies menos frecuentes *Candida guilliermondii* muestra CMI's más altas (0.25µg/mL y 0.5µg/mL) en comparación con resultados previos en donde se obtuvo una CMI promedio de 0.06µg/mL ⁽²²⁾.

Aunque este resultado es significativo para los estudios de acción *in vitro* de este antifúngico, el que no cuente con puntos de corte establecidos, no permite saber si las especies de *Candida spp.* muestran susceptibilidad o resistencia; sin embargo, el que presenten CMI's bajas podría sugerir que las especies de este género pueden presentar susceptibilidad a este antifúngico.

Anfotericina B.

Las CMI's obtenidas para este antifúngico se encuentran entre 0.5 y 1.0 µg/mL, las cuales difieren de valores reportados anteriormente ^(22,13) para la obtención de la CMI₉₀ (*C.albicans* [0.25 y 1.0µg/mL], *C.glabrata* [0.5 y 4.0µg/mL], *C.tropicalis* [0.5 y 1.0µg/mL], *C.parapsilosis* [0.5 y 1.0µg/mL], *C.krusei* [0.5µg/mL], *C.lusitaniae* [0.5µg/mL]).

Anfotericina B es un antifúngico al cual no se le ha podido establecer puntos de corte a pesar de la importancia que tiene en la clínica, por ser el antifúngico de elección para el tratamiento de infecciones sistémicas por hongos, debido a la variación de los resultados en los estudios *in vitro* que se han realizado ^(22,23): no obstante, como estos sugieren, al igual que el método de referencia, es posible que el punto de corte sea >1.0µg/mL, es decir, que a partir de

concentraciones mayores a uno se puede establecer el valor de resistencia para este antifúngico con respecto al género de *Candida spp.*

Los resultados obtenidos en este estudio apoyan esta posibilidad, puesto las CMI's obtenidas se encuentran en este valor o por debajo de él.

Ketoconazol.

Las CMI's obtenidas para este antifúngico son bajas; sin embargo, al no ser de elección para el tratamiento de infecciones sistemas debido a sus efectos adversos el resultado a destacar sería el obtenido para *C.albicans* que al tener una CMI $\leq 0.008\mu\text{g/mL}$ con un 90% de inhibición indica que este antifúngico podría tener una buena acción para el tratamiento de infecciones superficiales cuando el agente etiológico sea esta especie, puesto que el Ketoconazol es utilizado ampliamente para el tratamiento de infecciones fúngicas superficiales.

Antifúngicos con puntos de corte establecidos.

Cinco son los antifúngicos que tienen puntos de corte establecidos por el documento M27-A del CLSI: Fluconazol, Itraconazol, Fluorocitosina, Voriconazol y Caspofungina. A pesar de que estos puntos de corte son estándar, cada especie de *Candida spp.* tiene un rango de inhibición distinto, por lo tanto, se determinaron los rangos por especie así como las medias geométricas **(MG)** para saber en que CMI se inhiben la mayor frecuencia de la especies de este género. En el caso de las especies que se aislaron con menos frecuencia se muestra las CMI's obtenidas.

Fluconazol.

La mayoría de las especies del género de *Candida spp.* caen en el rango de susceptibilidad a excepción de *C.glabrata*, *C.guilliermondii* y *C.famata* que se encuentra en el rango de Dosis Dependencia y *C.krusei* que se encuentra en el rango de resistencia.

Tabla 7. Rangos y Medias geométricas para las cepas más frecuentes del género *Candida spp.* con relación al Fluconazol.

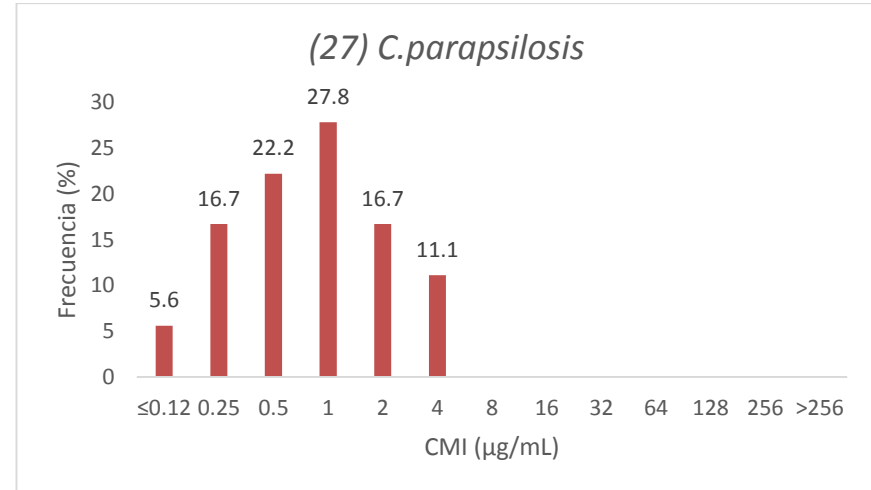
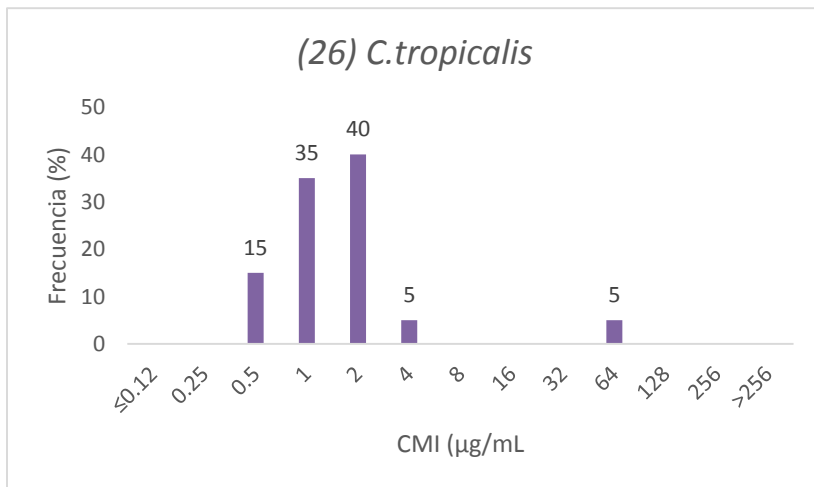
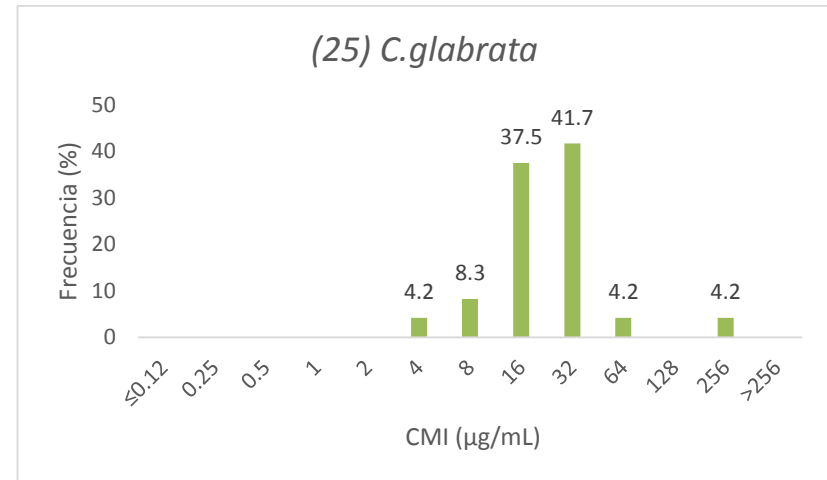
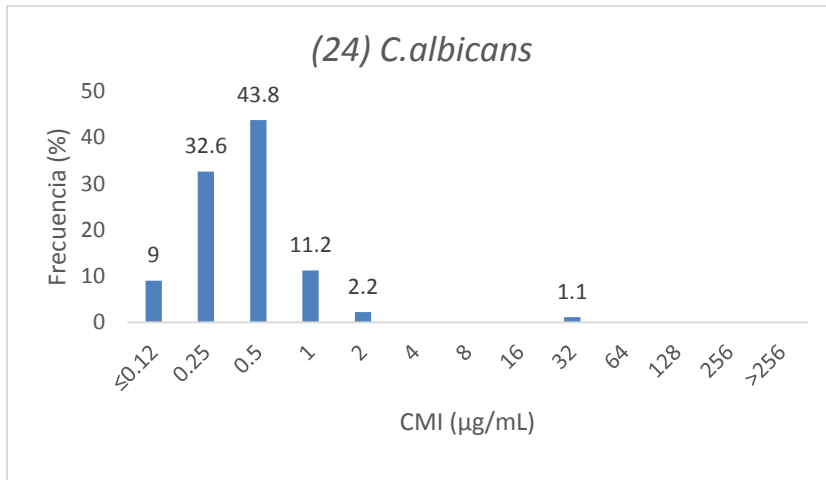
Puntos de corte estándar para Fluconazol.	
Rango (µg/mL)	Interpretación.
0.12-8.0	Susceptible (S)
16-32	Dosis Dependiente (DP)
64-256	Resistente (R)

Fluconazol				
Especie	Rango (µg/mL)	Porcentaje de Inhibición en el rango	MG (µg/mL)	Interpretación
<i>C.albicans</i> (89)	≤0.12-2.0	98.8%	0.5	S
<i>C.glabrata</i> (24)	16-32	79.2%	22.3	DP
<i>C.tropicalis</i> (20)	0.5-4.0	95%	1.4	S
<i>C.parapsilosis</i> (18)	≤0.12-4	100%	0.7	S

Tabla 8. CMI´s de las especies menos frecuentes del genero *Candida spp.*

Fluconazol		
Especie	CMI (µg/mL)	Interpretación
<i>C.krusei</i> (2)	64	R
<i>C.guilliermondii</i> (4)	4.0 (1)	S
	16 (2)	DP
	32 (1)	DP
<i>C.famata</i> (1)	64	R
<i>C.lusitaniae</i> (1)	2	S

Gráficos 24-27. Distribución de frecuencias en las diferentes CMI's para Fluconazol.



Itraconazol.

Para este antifúngico las especies de *C.albicans* y *C.parapsilosis* cayeron en el rango de Susceptibilidad, mientras que *C.tropicalis*, *C.krusei* y *C.guilliermondii* se encontraron en el rango de Dosis Dependencia, en tanto que *C.glabrata* y *C.famata* en el rango de resistencia.

Tabla 9. Rangos y Medias geométricas para las cepas más frecuentes del género *Candida spp.* con relación al Itraconazol.

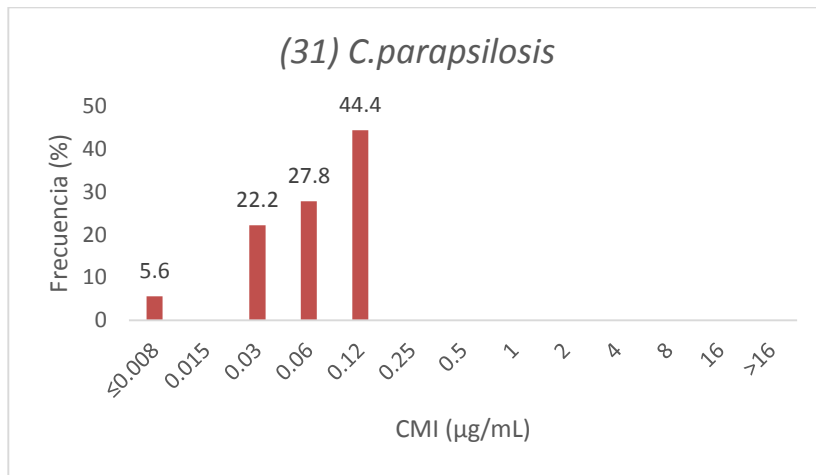
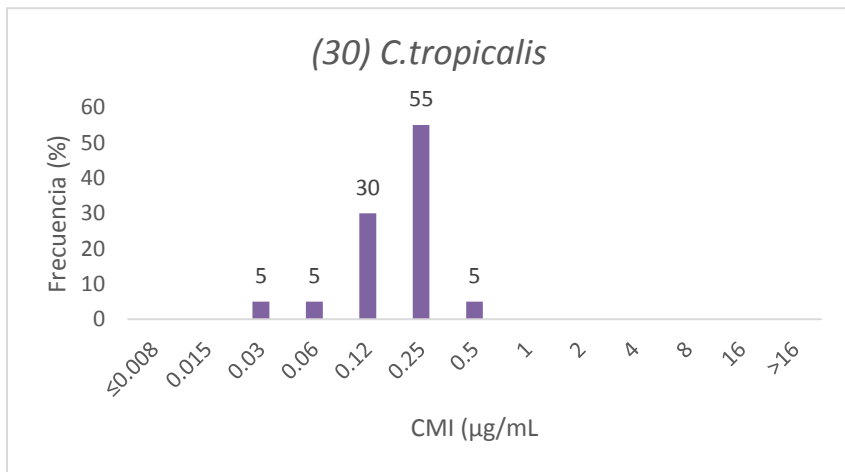
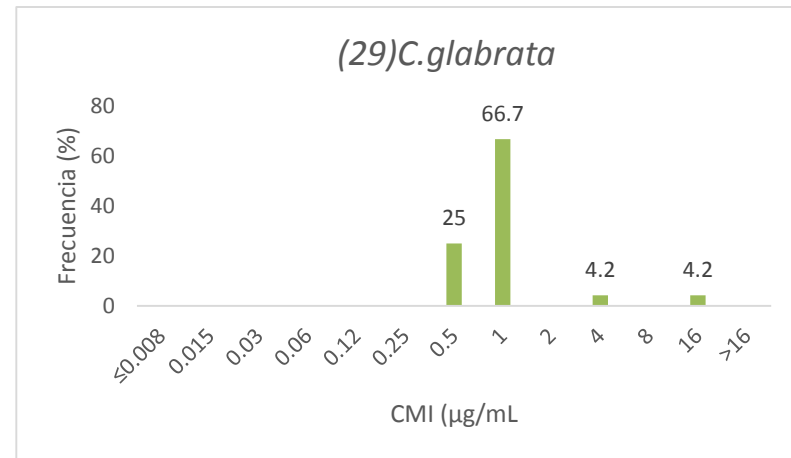
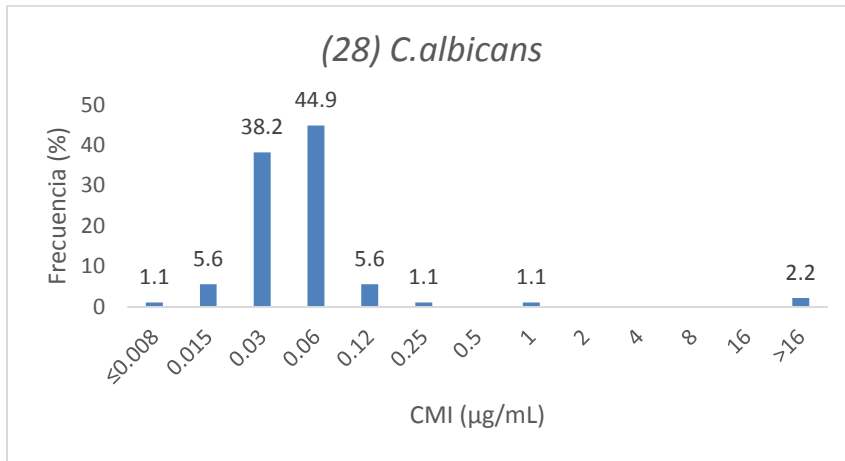
Puntos de corte estándar para Itraconazol.	
Rango (µg/mL)	Interpretación.
0.008-0.12	Susceptible (S)
0.25-0.5	Dosis Dependiente (DP)
1.0-16	Resistente (R)

Itraconazol				
Especie	Rango (µg/mL)	Porcentaje de Inhibición en el rango	MG (µg/mL)	Interpretación
<i>C.albicans</i> (89)	≤0.008-0.12	95.4%	0.03	S
<i>C.glabrata</i> (24)	1.0	66.7%	1.0	R
<i>C.tropicalis</i> (20)	0.25-0.5	60%	0.35	DP
<i>C.parapsilosis</i> (18)	0.03-0.12	94.4%	0.06	S

Tabla 10. CMI's de las especies menos frecuentes del genero *Candida spp.*

Itraconazol		
Especie	CMI (µg/mL)	Interpretación
<i>C.krusei</i> (2)	0.25 (1)	DP
	0.5(1)	DP
<i>C.guilliermondii</i> (4)	0.5 (3)	DP
	1.0 (1)	R
<i>C.famata</i> (1)	>16	R
<i>C.lusitaniae</i> (1)	0.12	S

Gráficos 28-31. Distribución de frecuencias en las diferentes CMI's para Itraconazol.



Fluorocitosina.

La mayoría de las especies del genero *Candida spp.* se encontraron en el rango de susceptibilidad. En el caso particular de *C.glabrata* se encontró un 100% de inhibición en la CMI ≤ 0.03 $\mu\text{g/mL}$; sin embargo, los asilados obtenidos de *C.krusei* se encontraron en el rango de Intermedio y Resistencia.

Tabla 11. Rangos y Medias geométricas para las cepas más frecuentes del género *Candida spp.* con relación a Fluorocitosina.

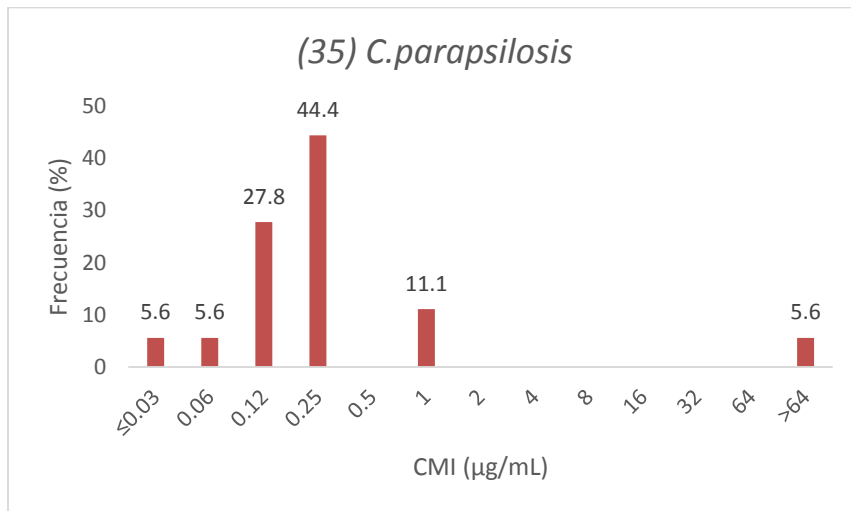
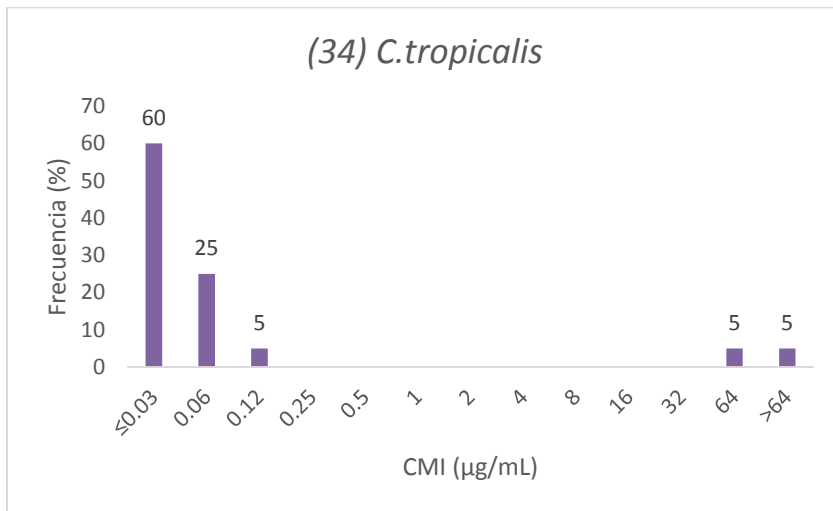
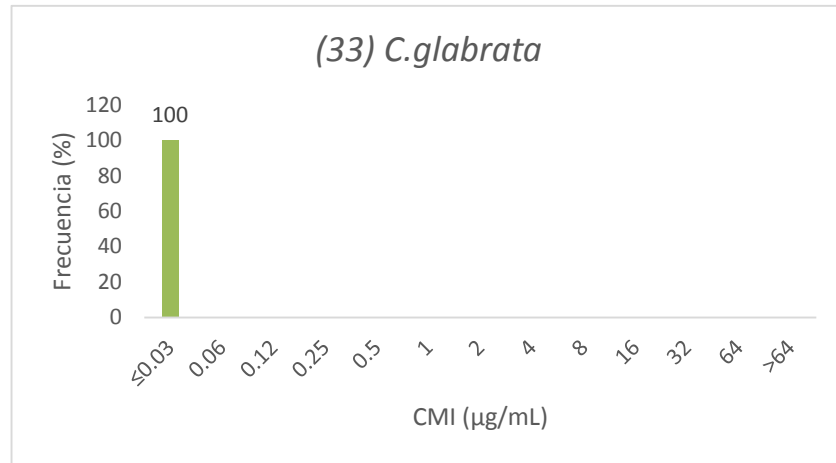
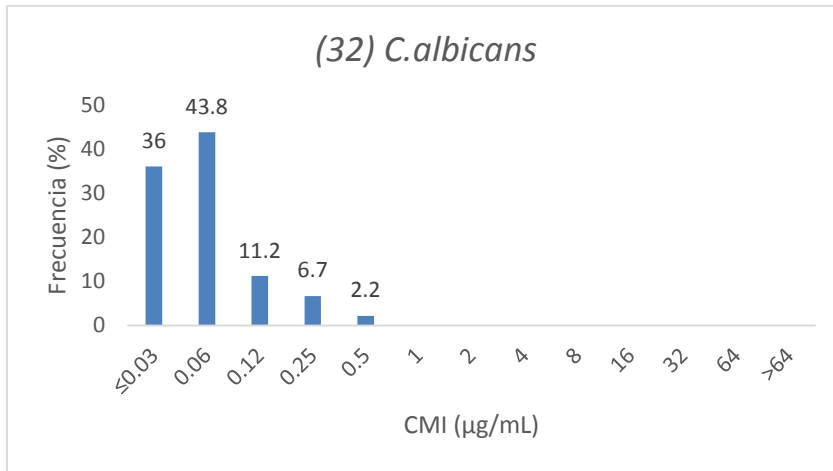
Puntos de corte estándar para Fluorocitosina	
Rango ($\mu\text{g/mL}$)	Interpretación.
0.03-4.0	Susceptible (S)
8.0-16	Intermedio (I)
32-64	Resistente (R)

Fluorocitosina				
Especie	Rango ($\mu\text{g/mL}$)	Porcentaje de Inhibición en el rango	MG ($\mu\text{g/mL}$)	Interpretación
<i>C.albicans</i> (89)	$\leq 0.03-0.5$	100%	0.12	S
<i>C.glabrata</i> (24)	≤ 0.03	100%	≤ 0.03	S
<i>C.tropicalis</i> (20)	$\leq 0.03-0.12$	90%	0.06	S
<i>C.parapsilosis</i> (18)	$\leq 0.03-1.0$	94.5%	0.17	S

Tabla 12. CMI's de las especies menos frecuentes del genero *Candida spp.*

Fluorocitosina		
Especie	CMI (µg/mL)	Interpretación
<i>C.krusei</i> (2)	16 (1)	I
	32 (1)	R
<i>C.guilliermondii</i> (4)	0.12	S
<i>C.famata</i> (1)	≤0.03	S
<i>C.lusitaniae</i> (1)	≤0.03	S

Gráficos 32-35. Distribución de frecuencias en las diferentes CMI's para Fluorocitosina.



Voriconazol.

Todas las especies del genero *Candida spp.* se encontraron en el rango de susceptibilidad para este antifúngico.

Tabla 13. Rangos y Medias geométricas para las cepas más frecuentes del género *Candida spp.* con relación al Voriconazol.

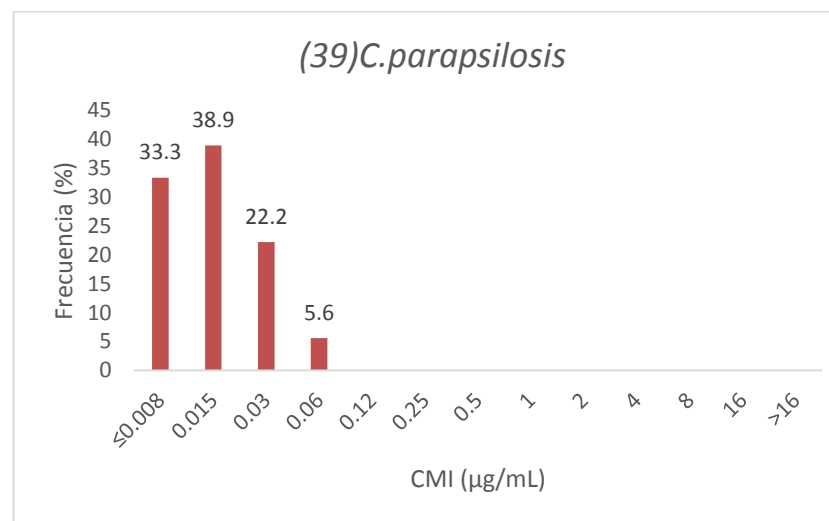
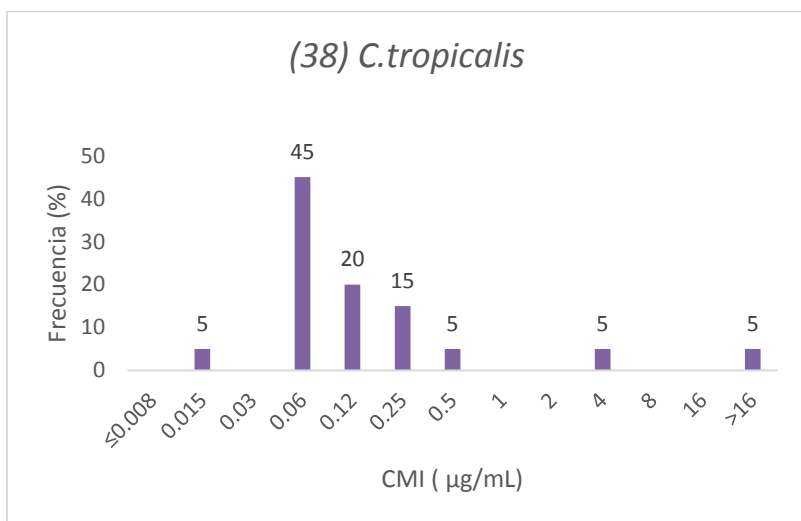
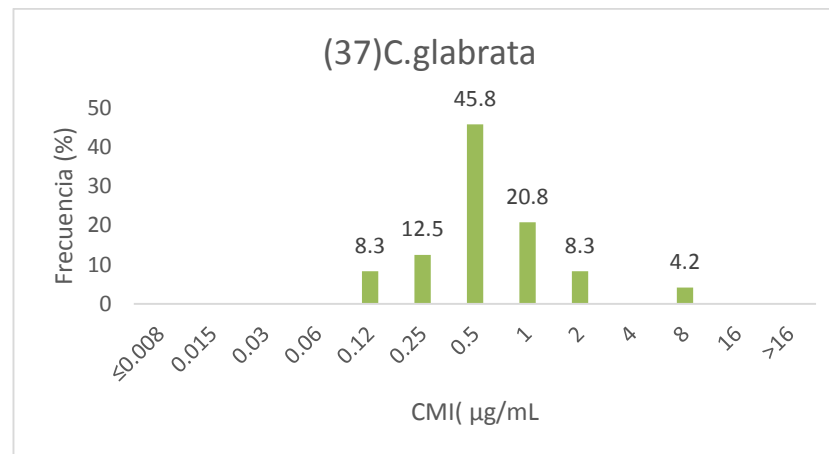
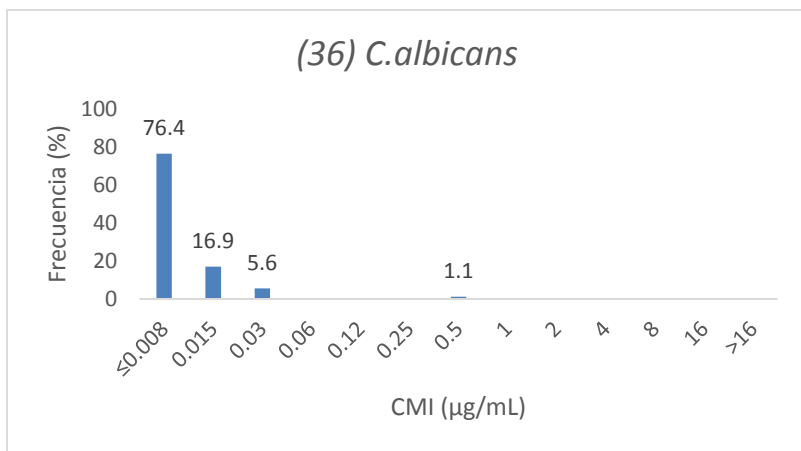
Puntos de corte estándar para Voriconazol	
Rango (µg/mL)	Interpretación.
0.008-1.0	Susceptible (S)
2.0	Dosis Dependiente (DP)
4.0-16	Resistente (R)

Voriconazol.				
Especie	Rango (µg/mL)	Porcentaje de Inhibición en el rango	MG (µg/mL)	Interpretación
<i>C.albicans</i> (89)	≤0.008-0.03	98.9%	0.015	S
<i>C.glabrata</i> (24)	0.12-1.0	87.4%	0.35	S
<i>C.tropicalis</i> (20)	0.06-0.5	85%	0.17	S
<i>C.parapsilosis</i> (18)	≤0.008-0.06	100%	0.02	S

Tabla 14. CMI's de las especies menos frecuentes del genero *Candida spp.*

Voriconazol		
Especie	CMI (µg/mL)	Interpretación
<i>C.krusei</i> (2)	0.5 (1)	S
	1.0 (1)	S
<i>C.guilliermondii</i> (4)	0.12 (1)	S
	0.5 (3)	S
<i>C.famata</i> (1)	1	S
<i>C.lusitaniae</i> (1)	0.03	S

Gráficos 36-39 . Distribución de frecuencias en las diferentes CMI's para Voriconazol.



Caspofungina.

La mayoría de las especies del género *Candida spp.* se encontraron en el rango de susceptibilidad; no obstante, *C.guilliermondii* y *C.famata* se ubicaron en el rango de resistencia.

Tabla 15. Rangos y Medias geométricas para las cepas más frecuentes del género *Candida spp.* con relación a la Caspofungina.

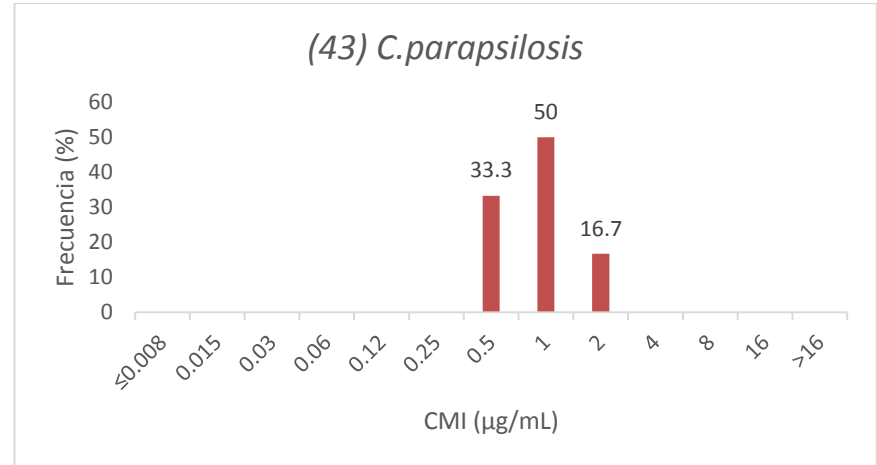
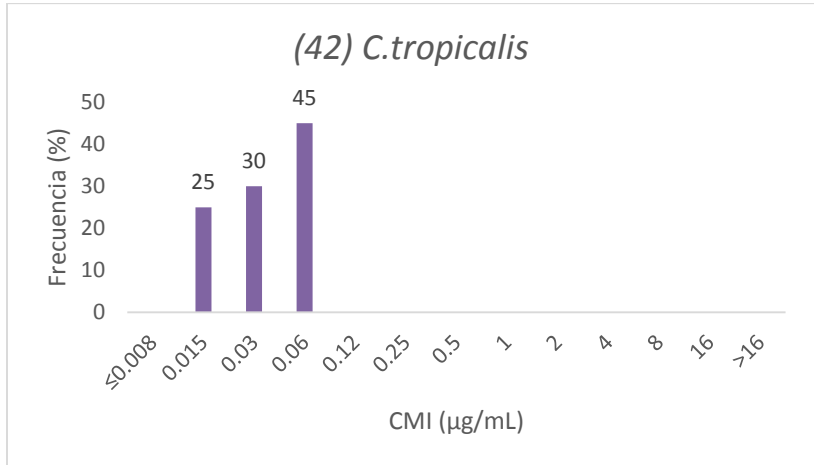
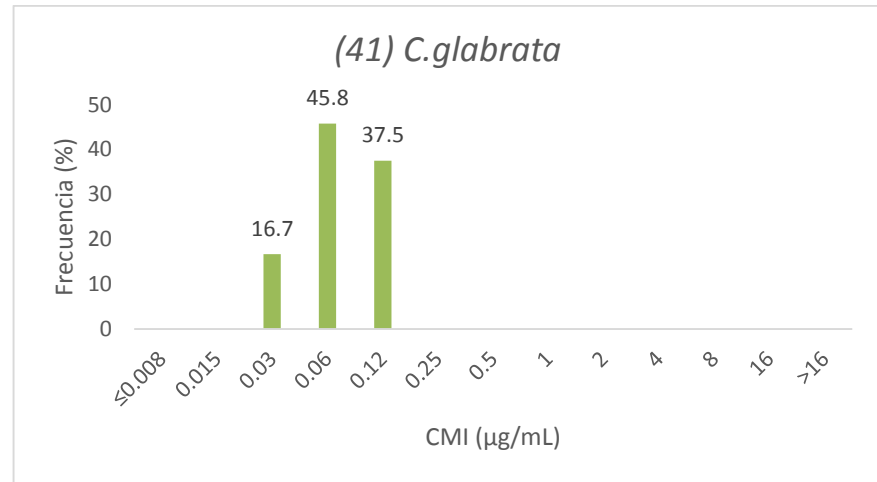
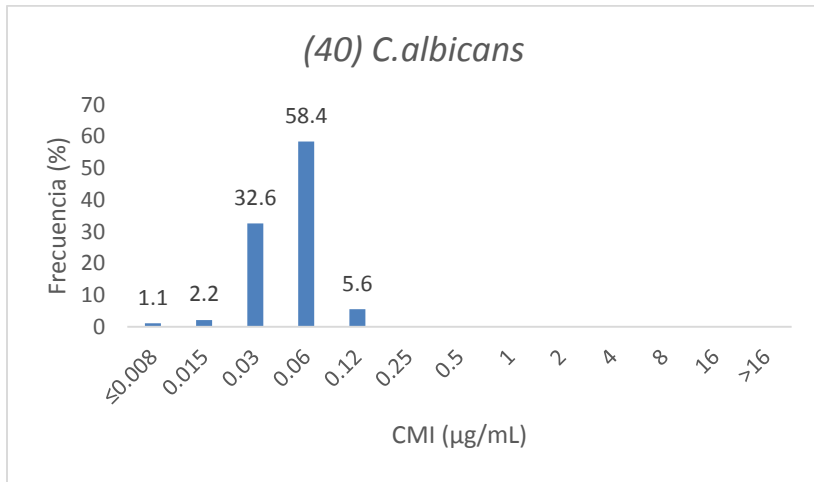
Puntos de corte estándar para Caspofungina.	
Rango (µg/mL)	Interpretación.
≤2.0	Susceptible (S)
>2.0	Resistente (R)

Caspofungina.				
Especie	Rango (µg/mL)	Porcentaje de Inhibición en el rango	MG (µg/mL)	Interpretación
<i>C.albicans</i> (89)	≤0.008-0.12	100%	0.03	S
<i>C.glabrata</i> (24)	0.03-0.12	100%	0.06	S
<i>C.tropicalis</i> (20)	0.015-0.06	100%	0.03	S
<i>C.parapsilosis</i> (18)	0.5-2.0	100%	1.0	S

Tabla 16. CMI's de las especies menos frecuentes del genero *Candida spp.*

Caspofungina.		
Especie	CMI (µg/mL)	Interpretación
<i>C.krusei</i> (2)	0.5	S
<i>C.guilliermondii</i> (4)	4.0 (1)	R
	>16 (3)	R
<i>C.famata</i> (1)	>16	R
<i>C.lusitaniae</i> (1)	0.25	S

Gráficos 40-43. Distribución de frecuencias en las diferentes CMI's para Caspofungina.



Fluconazol.

En los resultados obtenidos muestran que las especies más frecuentes son susceptibles a este antifúngico, a excepción de *C.glabrata* y *C.krusei* que al tener resistencia intrínseca, muestran valores de dosis dependencia y resistencia, tal como se ha reportado en estudios anteriores^(22,23), en donde se obtuvieron CMI's₍₉₀₎ para *C.glabrata* de 32µg/mL y para *C.krusei* CMI's₍₉₀₎ de 64µg/mL y >64µg/mL; las cuales son similares a las obtenidas en este estudio (*C.glabrata* en un rango de 16-32µg/mL con una MG de 22.3 µg/mL y *C.krusei* con CMI's de 64µg/mL)

Para el caso de las especies *C.guillermundii* y *C.famata* al ser de poca frecuencia en el área clínica, no se tiene mucha información acerca de su susceptibilidad, sin embargo, los resultados difieren de los obtenidos por Ostrosky y Cols (2003) , que para *C.guillermundii* obtuvieron una CMI promedio de 4.0µg/mL ; no obstante hay similitud en resultados obtenidos por P.faller y Cols (2004) que muestran una CMI₉₀ de 16.0µg/mL,(en este estudio se obtuvieron CMI's con valores de 4µg/mL,16µg/mL y 32µg/mL). De acuerdo a estos resultados, se puede decir, que existe variación para esta especie. Como se vio en este estudio, tres de los cuatro aislamientos cayeron en el rango de Dosis Dependencia y solo uno en el rango de Susceptibilidad, por lo que al haber variación, se necesitaría mayor cantidad de aislamientos para observar la tendencia de esta especie con respecto a este antifúngico.

C.famata al ser solo un aislamiento no se podría comparar con estudios realizados anteriormente con esta especie; sin embargo, de acuerdo a lo realizado por P.faller y Cols (2003) de 10 aislamientos de esta especie obtuvo un 100% de inhibición en la CMI de 16.0µg/mL, lo que indica que esta especie puede ser Dosis Dependiente al antifúngico; a pesar de que en este estudio se obtuvo una CMI de 64µg/mL, lo que indica que la cepa es resistente al antifúngico; sin embargo, el solo tener un aislamiento no se puede determinar el comportamiento de la especie con respecto al fluconazol.

Itraconazol.

Varias especies de este género muestran resistencia (*C.glabrata* MG 1.0µg/mL) y dosis dependencia (*C.krusei* CMI 0.25µg/mL) y *C.tropicalis* (MG 0.35µg/mL) para este antifúngico, puesto que se obtuvieron resultados que son similares con estudios realizados anteriormente

(^{22,25}) , para la determinación de la CMI₅₀(²²) (*C.albicans* [0.06µg/mL], *C.glabrata* [1.0µg/mL], *C.tropicalis* [0.13µg/mL], *C.parapsilosis* [0.13µg/mL], *C.krusei* [0.5µg/mL], *C.lusitaniae* [0.06µg/mL], *C.guillermundii* [0.5µg/mL]). Por lo tanto, basándose en los resultados *in vitro*, es posible que este antifúngico solo funcione para el tratamiento de infecciones causadas por *C.albicans* (MG 0.03µg/mL) y *C.parapsilosis* (MG 0.06µg/mL).

Fluorocitosina.

Las especies de este género mostraron susceptibilidad *in vitro* al antifúngico (*C.albicans* [MG 0.12µg/mL], *C.glabrata* [MG ≤0.03µg/mL], *C.tropicalis* [MG 0.06µg/mL], *C.parapsilosis* [MG 0.17µg/mL], *C.guillermundii* [0.12µg/mL], *C.lusitaniae* [≤0.03µg/mL]) la excepción fue *C.krusei* cuyos valores de CMI cayeron en los rangos de intermedio (16.0µg/mL) y resistencia (32µg/mL). Los resultados obtenidos son similares a estudios anteriores (^{22,26}), para la determinación de la CMI₅₀(²²) (*C.albicans* [0.13µg/mL], *C.glabrata* [0.13µg/mL], *C.tropiacalis* [0.13µg/mL], *C.parapsilosis* [0.13µg/mL], *C.lusitaniae* [0.13µg/mL], *C.guillermundii* [0.13µg/mL], *C.krusei* [4.0µg/mL y CMI₉₀ de 32µg/mL]).

Es importante mencionar que la fluorocitosina no esta a la venta en México, por lo tanto, los resultados que se obtuvieron corresponden a valores propios de cada especie, puesto que no han sido expuestas al antifúngico.

Voriconazol.

Todas las especies de este género mostraron susceptibilidad al Voriconazol, lo que coincide con lo realizado por Ostrosky y Cols (2003) para la determinación de las CMI₅₀ (*C.albicans* [0.03µg/mL], *C.glabrata* [0.25µg/mL], *C.tropicalis* [0.06µg/mL], *C.parapsilosis* [0.03µg/mL], *C.krusei* [0.5µg/mL], *C.lusitaniae* [0.03µg/mL]).

En este estudio se obtuvieron resultados similares (*C.albicans* [MG 0.02µg/mL], *C.krusei* [CMI's 0.5µg/mL y 1.0 µg/mL], *C.lusitaniae* [CMI 0.03µg/mL], *C.glabrata* [MG 0.4µg/mL]) y en algunos casos, valores más bajos que los obtenidos por Ostrosky y Cols (2003) (*C.parapsilosis* [MG 0.015µg/mL], *C.tropicalis* [MG 0.17µg/mL]).

Caspofungina.

Para el caso de la caspofungina, *C.guilliermondii* y *C.famata* son las únicas especies del género que mostraron resistencia a este antifúngico. Para *C.guilliermondii* los resultados obtenidos (4µg/mL y 16µg/mL) difieren de los reportados por Ostrosky y Cols (2003) (CMI de 1.0µg/mL para esta especie) y P.faller y Cols (2004) (CMI de 1.0µg/mL para esta especie), mientras que para *C.famata* no hay resultados anteriores de la relación *in vitro* de esta especie con respecto al antifúngico.

En las siguientes tablas se resumen los comportamientos de las especies del género *Candida spp.* con respecto a los antifúngicos utilizados para este estudio:

Tabla 17. Resumen de los patrones de susceptibilidad a antifúngicos sin puntos de corte establecidos para las especies más frecuentes del género *Candida spp.*

Especie	Antifúngicos	Rango (µg/mL)	MG (µg/mL)	(%) de inhibición	Valores mayores a la MG (µg/mL)	(%) de inhibición
<i>C.albicans</i> (89)	PZ	≤0.008-0.12	0.03	51.7	0.5	1.1
					1.0	1.1
					2.0	1.1
					>8	1.1
	ANFO B	0.12-2	0.5	48.3	1	44.9
	KZ	≤0.008-0.015	0.01	93	2	1.1
					0.12	1.2
					0.5	1.2
					16	3.5
>16	1.2					
<i>C.glabrata</i> (24)	PZ	0.5-2	1	45.8	>8	4.2
	ANFO B	0.5-2	1	54.2	2.0	16.7
	KZ	0.25-2	0.71	79.2	8.0	4.2
<i>C.tropicalis</i> (20)	PZ	0.06-1	0.25	25	>8.0	5
	ANFO B	0.12-2.0	0.5	20	1.0	55
					2.0	5
	KZ	0.03-0.5	0.12	30	0.25	5
					0.5	10
<i>C.parapsilosis</i> (18)	PZ	0.015-0.06	0.03	55.6	0.06	33.3
	ANFO B	0.5-2.0	1.0	55.6	2.0	16.7
	KZ	≤0.008-0.06	0.022	55.5	0.06	16.7

Tabla 18. Resumen de los patrones de susceptibilidad a antifúngicos sin puntos de corte establecidos para las especies menos frecuentes del género *Candida spp.*

Espece	Antifúngico	CMI's (µg/mL)	Número de aislamientos
<i>C.krusei</i> (2)	PZ	0.25	1
		0.5	1
	ANFO B	1.0	2
	KZ	0.5	1
		1.0	1
<i>C.guillermundii</i> (4)	PZ	0.25	1
		0.5	3
	ANFO B	1.0	3
		2.0	1
	KZ	0.12	2
		0.25	1
0.5		1	
<i>C.famata</i> (1)	PZ	>8.0	1
	ANFO B	0.25	1
	KZ	>16	1
<i>C.lusitaniae</i> (1)	PZ	0.03	1
	ANFO B	0.5	1
	KZ	0.12	1

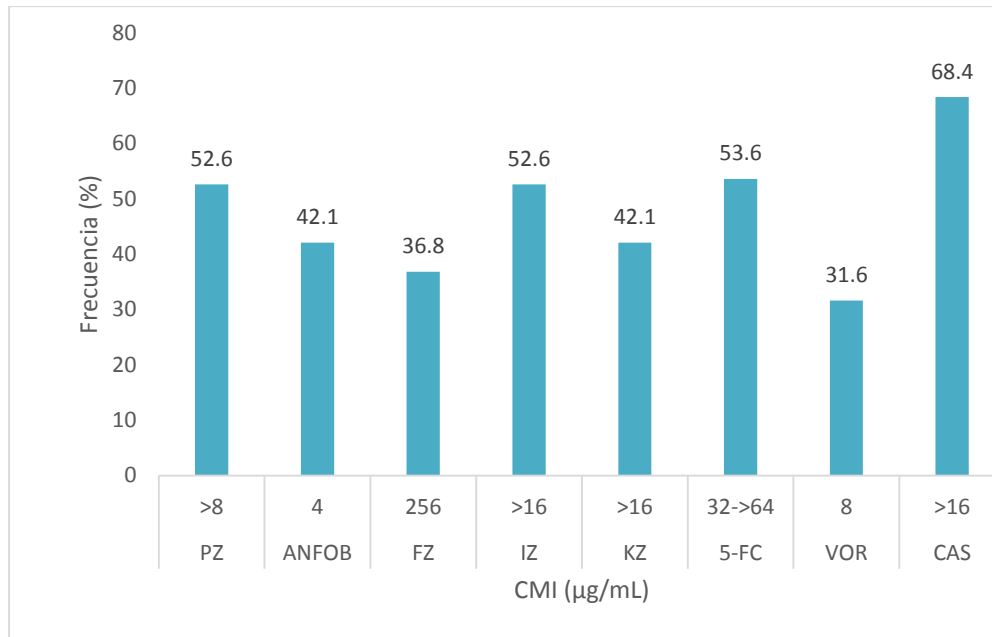
Tabla 19. Resumen patrones de susceptibilidad a antifúngicos con puntos de corte establecidos para las especies del género *Candida* spp.

Especie	Antifúngicos	(%) Susceptible	(%) Dosis Dependiente	(%) Intermedio	(%) Resistente
<i>C.albicans</i> (89)	FZ	98.8	-	N/A	1.1
	IZ	95.4	1.1	N/A	2.2
	5-FC	100	N/A	-	-
	VOR	100	-	N/A	-
	CAS	100	N/A	N/A	N/A
<i>C.glabrata</i> (24)	FZ	12.5	79.2	N/A	8.4
	IZ	-	25	N/A	75.1
	5-FC	100	N/A	-	-
	VOR	87.4	8.3	N/A	4.2
	CAS	100	N/A	N/A	-
<i>C.tropicalis</i> (20)	FZ	95	-	N/A	5
	IZ	40	60	N/A	-
	5-FC	100	N/A	-	-
	VOR	90	-	N/A	10
	CAS	100	N/A	N/A	N/A
<i>C.parapsilosis</i> (18)	FZ	100	-	N/A	-
	IZ	100	-	N/A	-
	5-FC	94.5	N/A	-	5.6
	VOR	100	-	N/A	-
	CAS	100	N/A	N/A	N/A
<i>C.krusei</i> (2)	FZ	-	-	N/A	100
	IZ	-	100	N/A	-
	5-FC	-	N/A	50	50
	VOR	100	-	N/A	-
	CAS	100	N/A	N/A	-
<i>C.guillermontii</i> (4)	FZ	25	75	N/A	-
	IZ	-	75	N/A	25
	5-FC	100	N/A	-	-
	VOR	100	-	N/A	-
	CAS	-	N/A	N/A	100
<i>C.famata</i> (1)	FZ	-	-	N/A	100
	IZ	-	-	N/A	100
	5-FC	100	N/A	-	-
	VOR	100	-	N/A	-
	CAS	-	N/A	N/A	100
<i>C.lusitaniae</i> (1)	FZ	100	-	N/A	-
	IZ	100	-	N/A	-
	5-FC	100	N/A	-	-
	VOR	100	-	N/A	-
	CAS	100	N/A	N/A	-

Abreviaturas: FZ (Fluconazol); IZ (Itraconazol); 5-FC (Fluorocitosina) ; VOR (Voriconazol); CAS (Caspofungina); N/A (No Aplica).

6.4 Patrones de susceptibilidad para el género *Trichosporon spp.*

Gráfico 44. Patrón de susceptibilidad para el género *Trichosporon spp.*



De acuerdo a los resultados obtenidos, el género *Trichosporon spp.* muestra tener resistencia *in vitro* a los antifúngicos utilizados para este estudio. Como se esperaba para la Caspofungina el 68.4% de las cepas aisladas son resistentes, puesto que este género muestra resistencia intrínseca al antifúngico.

En general, no se podrían realizar comparaciones con otros estudios, puesto que no se tienen las especies bien identificadas, debido a la dificultad en la lectura de las pruebas bioquímicas para las especies de este género, tal como lo demuestra Rodríguez y Cols (2005); sin embargo, como se puede observar en estudios anteriores^(18,24,27), los rangos de inhibición para este género son muy grandes, por lo que solo se han logrado describir el comportamiento con Anfotericina B y azólicos en particular el Voriconazol.

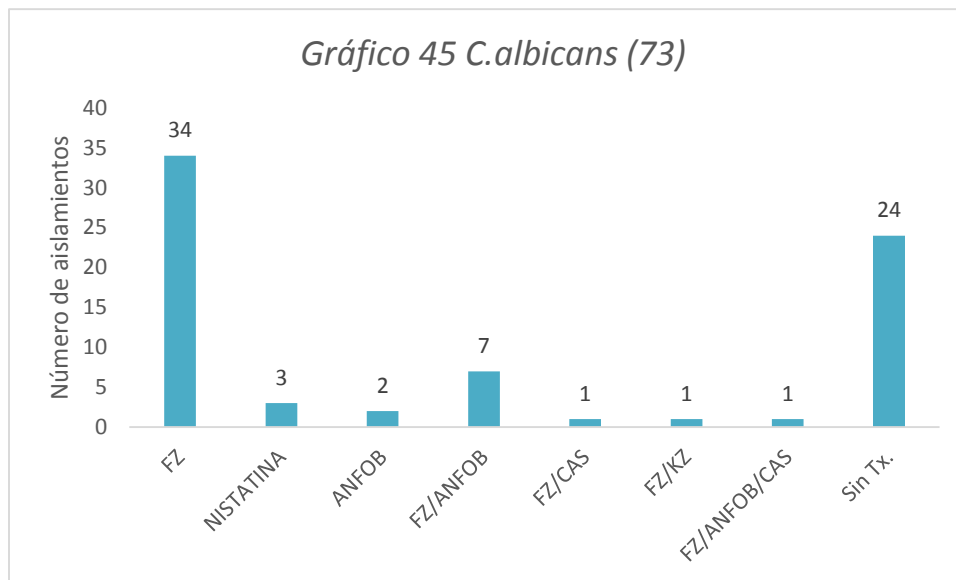
En lo referente a la Anfotericina B, de acuerdo al estudio realizado por Rodríguez y Cols (2005) *T.asahii* muestra ser resistente a CMI's >2.0µg/mL, mientras que otras especies diferentes a *T.asahii* muestran susceptibilidad a este antifúngico (*T.inkin* [MG 0.21µg/mL], *T.mucoides* [MG

0.69µg/mL], *T.cutaneum* [MG 0.29µg/mL]). En nuestro estudio, a pesar de que se agruparon todas las especies, la mayoría de estas resultó ser resistente a este antifúngico (42.1% se inhibió a una CMI de 4.0µg/mL, el 15.8% a una CMI de 0.5µg/mL y el 31.6% a una CMI >4.0µg/mL), la mayoría de éstas diferentes a *T.asahii*, puesto que de esta especie solo se obtuvieron dos aislados.

En el caso de los derivados azólicos, se tuvieron frecuencias menores al 40% para Fluconazol y Voriconazol puesto que algunas cepas se inhibieron con CMI's bajas de estos antifúngicos (para el fluconazol, el 21.1% de los aislados se encontraron en el rango de susceptibilidad y el 10.6% en el rango de dosis dependencia, mientras que para el voriconazol el 31.6 % fue susceptible y el 26.3% dosis dependiente), tal como se ha reportado anteriormente ⁽²⁷⁾ Fluconazol (*T.asahii* [MG 4.3µg/mL], *T.inkin* [MG 2.0µg/mL], *T.cutaneum* [MG 0.84µg/mL], *T.mucoides* [7.0µg/mL]) ; Voriconazol (*T.asahii* [MG 0.18µg/mL], *T.inkin* [MG 0.12µg/mL], *T.cutaneum* [MG 0.02µg/mL], *T.mucoides* [MG 0.25µg/mL]), el Voriconazol, es el antifúngico en donde se obtienen CMI's bajas y por lo tanto, el mejor para el tratamiento contra infecciones provocadas por este género.

6.5 Resultados del Tratamiento Antifúngico en los aislados obtenidos de los géneros *Candida spp.* y *Trichosporon spp.*

Para la elección del tratamiento, los médicos se basan en las Recomendaciones para el tratamiento de Candidiasis en la Práctica Clínica de la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas. ⁽²⁸⁾



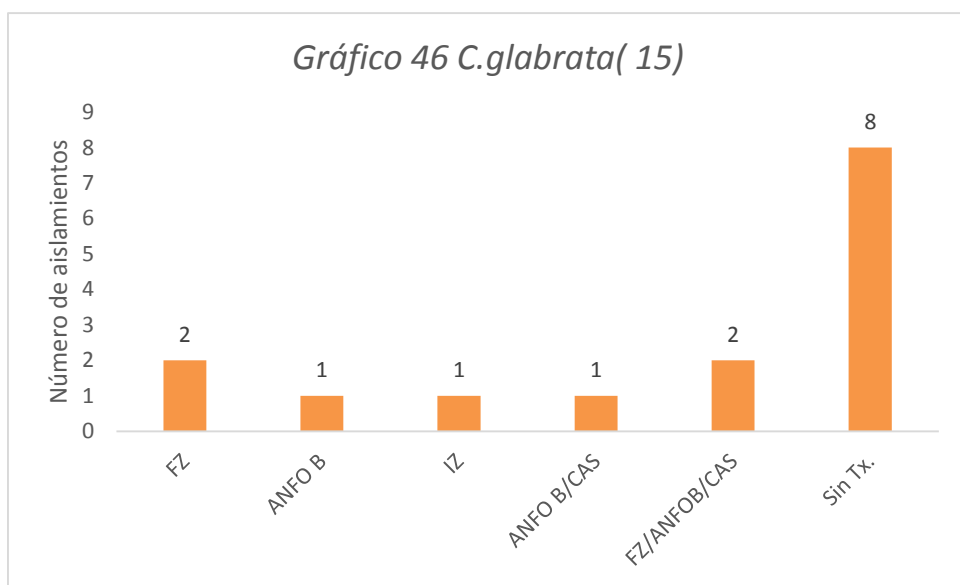
Para *C. albicans* reportada en los expedientes revisados, 73 pacientes tuvieron como único agente causal de la infección a esta especie. Como se observa en los resultados, el antifúngico de elección para el tratamiento fue Fluconazol, el cual se administró en la mayoría de las infecciones, que en general fueron candidiasis orofaríngea e IVU. Las combinaciones que más se utilizaron fueron Fluconazol con Anfotericina B, Fluconazol con Caspofungina y Fluconazol, Anfotericina B y Caspofungina. En la primera combinación, los casos se trataron de infecciones de focos múltiples, es decir, se obtuvo de diferentes muestras, principalmente orina y hemocultivo, otro fue de Orina y LCR, y en otro se encontró presencia de fungomas.

En el caso de la combinación FZ/CAS esta fue para el tratamiento de candidemia, FZ/KZ para tratamiento de infección vaginal, y la combinación FZ/ANFO B/CAS en un caso de candidiasis orofaríngea donde no había respuesta clínica en el paciente.

Para los pacientes que recibieron Anfotericina B como tratamiento, el hongo levaduriforme se aisló de hemocultivos; no obstante, estos pacientes fallecieron por infección asociada también a bacterias.

La Nistatina, es un antifúngico de la familia de los polienos que se utiliza para el tratamiento de infecciones fúngicas superficiales. Los pacientes que recibieron este antifúngico fueron para tratar candidiasis orofaríngea.

Veinticuatro pacientes no recibieron tratamiento, en la mayoría de los casos, no se le dio significado clínico, ya sea por el tipo de muestra (orina y LBA) o por que no se completó la serie de tres muestras; no obstante, en once de estos casos se encontró el examen directo positivo (presencia de pseudohifas y blastoconidios) formas pasasitarias patognómicas de candidiasis, las cuales, en su mayoría, provinieron de cavidad bucal.

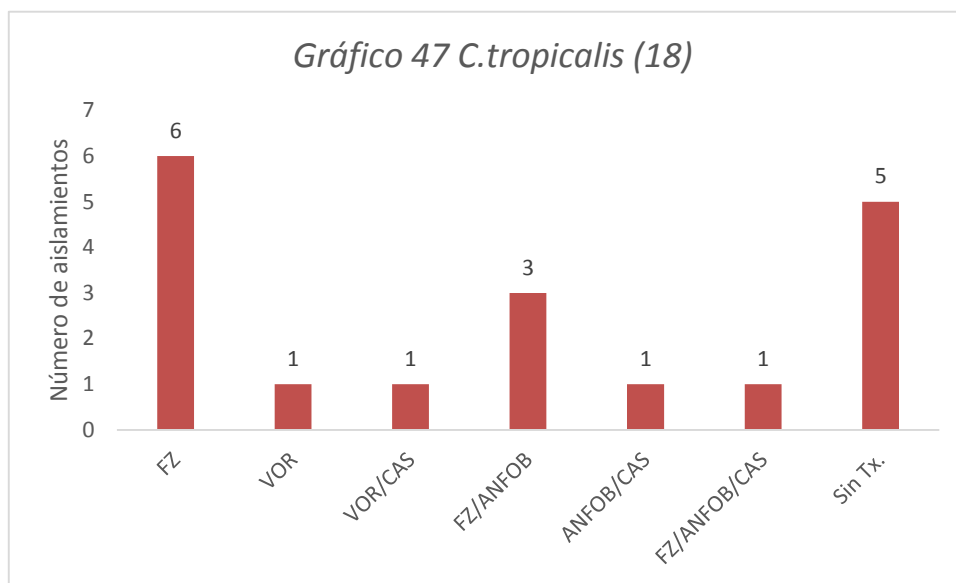


De los expedientes revisados 15 pacientes, presentaron como único agente causal a *C.glabrata*, de los cuales, a ocho pacientes no se les dio tratamiento. De acuerdo a lo reportado en estos expedientes todos fueron muestras de orina, y por lo tanto, no se les dio significado clínico.

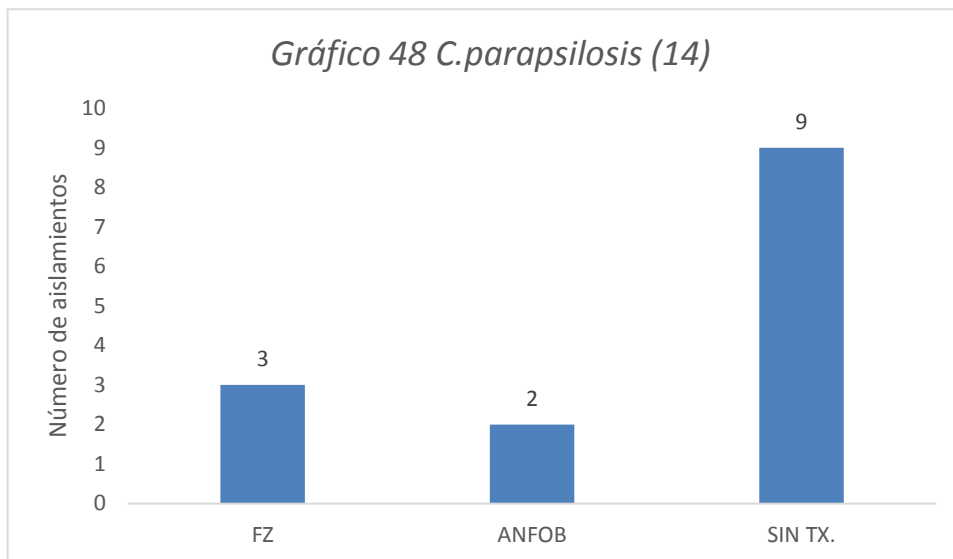
En los aislamientos tratados con fluconazol, se les dio la máxima dosis (12mgKg/día), resultando mejoría con el tratamiento. En la infección tratada con Anfotericina B, también hubo mejoría del paciente.

El paciente tratado con Itraconazol, no se le dio significado clínico a pesar de que hubo crecimiento del hongo levaduriforme, más bien, se dio como profiláctico para evitar la aparición de Aspergilosis.

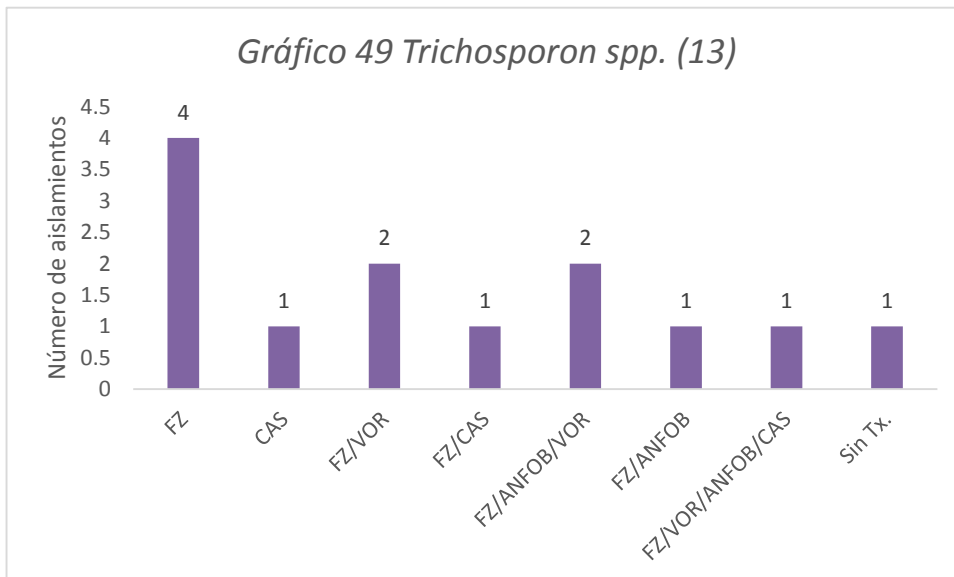
Las combinaciones de ANFOB/CAS y FZ/ANFOB/CAS, se utilizaron para el tratamiento de candidemia, solo en la primera hubo mejoría en el paciente, mientras que para los dos casos que se trataron con la última combinación resultaron en defunción.



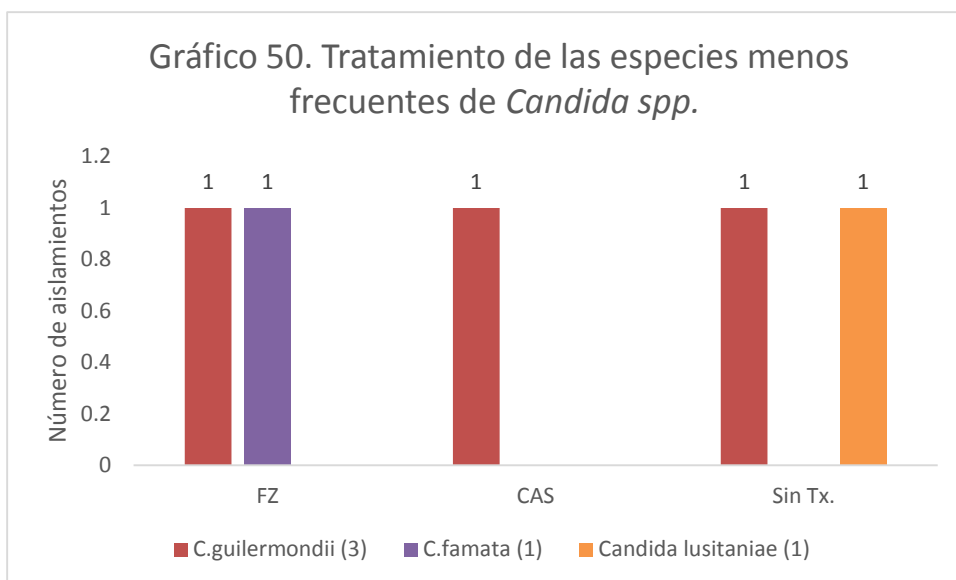
A dieciocho pacientes se les aisló como único agente etiológico a *C.tropicalis*. De acuerdo a los resultados, Fluconazol fue el antifúngico de elección. La mayoría de los pacientes tuvieron mejoría con los antifúngicos administrados. A los pacientes que no se les dio tratamiento, fue porque no se consideró con significado clínico aunque estos tenían cultivos positivos.



Catorce pacientes tuvieron como único agente causal a *C.parapsilosis*. Las muestras más frecuentes fueron LBA y Orina. De los pacientes que no recibieron tratamiento, tres de ellos tuvieron examen directo positivo, de las cuales una provino de Escamas de mano, otra de FRU y LBA.



Trece pacientes tuvieron como agente causal a *Trichosporon spp.* Los tratamientos utilizados para las infecciones causadas por este agente, involucraron combinaciones por largos periodos de tiempo, puesto que estos pacientes presentaron en su mayoría neutropenia profunda.



De los cuatro aislamientos de *C.guillermundii*, solo tres de ellos fueron implicados clínicamente; no obstante, solo dos recibieron tratamiento y el que no recibió resultó en defunción. Tres de estas cepas fueron aisladas de hemocultivo.

Para las otras especies, *C.famata*, la cual fue aislada de LCR recibió tratamiento con Fluconazol a una dosis de 12mgKg/día

Tabla 20. Tratamiento Antifúngico en infecciones mixtas generadas por los generos *Candida spp.* y *Trichosporon spp.*

Género y especie	Tratamiento Antifúngico				
	FZ	FZ/ANFO B/VOR/CAS	ANFO B	FZ/ ANFO B	SIN TX.
<i>C.albicans/C.glabrata</i> (4)		1	1	1	1
<i>C.tropicalis/C.glabrata</i> (1)	1				
<i>C.glabrata/C.parapsilosis</i> (1)					1
<i>C.krusei/T.beigelii</i> (1)					Sin datos del Tx.
<i>C.albicans/T.beigelii</i> (1)					1
<i>C.albicans/T.inkin</i> (1)		1			
<i>C.albicans/C.krusei</i> (1)	1				
<i>C.albicans/C.tropicalis</i> (1)					1
<i>C.albicans/C.glabrata/T.beigelii</i> (1)		1			

Como se puede observar, el tratamiento para infecciones causadas por dos o más agentes causales, recibieron tratamientos variados. En el caso de infecciones que no tuvieron tratamiento no se les dio significado clínico.

En la mayoría de las infecciones mixtas los agentes se aislaron de orina, y para el tratamiento, en la mayoría de los casos solo se tomó en cuenta el primer hongo levaduriforme aislado, principalmente en infecciones asociadas a *C.albicans*.

6.6 Resistencia presentada en especies de los géneros *Candida spp.* y *Trichosporon spp.*

Se analizaron los aislamientos de estos géneros que tuvieron CMI's, comparando los resultados obtenidos *in vitro* con el tratamiento clínico que se les dio.

Acotaciones	Código de color.
Resistencia (R) <i>in vitro</i>	
Antifúngicos utilizados para el Tx.	
Susceptibilidad (S) <i>in vitro</i>	
Dosis dependencia (DP) <i>in vitro</i>	
Intermedio (I) <i>in vitro</i>	

Tabla 21. Resistencia presentada por *Candida albicans*.

Paciente	Diagnóstico	Muestra	Estado	Tx. Antifúngico	Dosis	Duración	Patrón de Susceptibilidad CMI (µg/mL)							
							PZ	ANFO B	FZ	IZ	KZ	5-FC	VOR	CAS
1	Sx.Intestino corto	Hemocultivo	Vivo	FZ	6mg/Kg día	3 días	>8.0	1.0	>256 (R)	>16.0 (R)	16.0	0.06 (S)	≤0.008 (S)	0.03 (S)
				ANFO B	5mg/Kg día	30 días								
2	Rabdomiosarcoma	CB	Vivo	FZ	6mg/Kg día	14 días	1.0	2.0	32(DP)	1.0 (R)	0.5	≤0.03 (S)	0.5 (S)	0.06 (S)

De la especie *C. albicans* dos cepas presentaron resistencia *in vitro*. La primera de ellas presentó resistencia a Itraconazol y Fluconazol; sin embargo, los antifúngicos utilizados para el tratamiento fueron Fluconazol y Anfotericina B complejo lipídico. Como se puede ver el Fluconazol se utilizó por poco tiempo, debido probablemente a que no se vio mejoría por parte del paciente con este fármaco.

En el segundo caso, la cepa presentó resistencia *in vitro* a Anfotericina B e Itraconazol; no obstante, se utilizó Fluconazol para el tratamiento, que aunque tuvo como resultado ser Dosis Dependiente, el paciente respondió y tuvo mejoría con la dosis más baja de 6mgKg/día.

Tabla 22. Resistencia presentada por *C.glabrata*.

Paciente	Diagnóstico	Muestra	Estado	Tx. Antifúngico	Dosis	Duración	Patrón de Susceptibilidad CMI (µg/mL)							
							PZ	ANFO B	FZ	IZ	KZ	5-FC	VOR	CAS
1	Hipertensión Endocraneana	Orina	Vivo	ANFOB	5mg/Kg día	19 días	0.5	2.0	8.0 (S)	0.5 (DP)	0.25	≤0.03 (S)	0.12 (S)	0.25 (S)
2	LES	CB	Vivo	FZ	6mg/Kg día	30 días	1.0	2.0	32 (DP)	1.0 (R)	1.0	≤0.03 (S)	0.5 (S)	0.12 (S)
				VOR	40mg/Kg día	40 días								
				CAS	70mg/día	70 días								
				ANFO B	150mg/día	25 días								
3	Sx. de Down	Secreción	Vivo	N/A	N/A	N/A	2.0	2.0	64 (R)	4.0 (R)	2.0	≤0.03 (S)	2.0 (DP)	0.25 (S)
4	ICS	Orina	Vivo	N/A	N/A	N/A	>8.0	1.0	256 (R)	>16.0 (R)	8.0	≤0.03 (S)	8.0 (R)	0.12 (S)
5	Rabdomiosarcoma	Orina	Defunción (metástasis)	FZ	6mg/Kg día	22 días	2.0	2.0	16.0 (DP)	1.0 (R)	0.5	≤0.03 (S)	0.5 (S)	0.25 (S)
				ANFO B	5mg/Kg día	17 días								
				CAS	50mg/día	4 días								
				FZ	12mg/Kg día	28 días								
				CAS	50mg/día	23 días								

Se presentaron cinco casos de resistencia *invitro* para *C.glabrata*. los principales antifúngicos a los que hubo resistencia fueron Anfotericina B, Fluconazol, Itraconazol y solo un caso con Voriconazol.

Para los casos de resistencia a Anfotericina B, este antifúngico fue dado para el tratamiento. El primer paciente solo recibió este antifúngico y hubo mejoría. En los siguientes dos casos, se utilizaron varios antifúngicos, además de que los pacientes tienen diagnósticos base que propician un mal funcionamiento del sistema inmunológico, las cepas no solo presentan resistencia a Anfotericina B, sino que son resistentes o dosis dependiente al Fluconazol, el cual se administró al igual que la Anfotericina B por tiempos prolongados, antes de usar las otras alternativas, que son la Caspofungina y el Voriconazol, a los cuales, las cepas presentaron susceptibilidad *in vitro*.

Dos pacientes no recibieron tratamiento; no obstante, son los casos donde se tiene resistencia a muchos antifúngicos, entre ellos el Voriconazol, que si bien, no es de elección para el tratamiento de infecciones por hongos levaduriformes, una de las cepas obtenidas resultó con resistencia *in vitro*.

Tabla 23. Resistencia presentada por *C.tropicalis*.

Paciente	Diagnóstico	Muestra	Estado	Tx.Antifúngico	Dosis	Duración	Patrón de Susceptibilidad CMI (µg/mL)							
							PZ	ANFO B	FZ	IZ	KZ	5-FC	VOR	CAS
1	IRC	Orina	Defunción (IRC+Choque séptico)	VOR	270 mg	6 días	0.5	0.25	64 (R)	0.5 (DP)	0.25	≤0.03 (S)	4.0 (R)	0.06 (S)
				CAS	50 mg	3 días								
2	Fascitis necrozante	Orina	Vivo	FZ	12mg/Kg día	6 días	0.12	2.0	1.0 (S)	0.25 (DP)	0.06	0.12 (S)	0.12 (S)	0.12 (S)
3	Obesidad	Exudado vaginal	Vivo	N/A	N/A	N/A	0.25	0.25	2.0 (S)	0.25 (DP)	0.03	64 (R)	0.12 (S)	0.06 (S)
4	LAL	Hemocultivo	Vivo	FZ	6mg/Kg día	10 días	0.03	1.0	0.5 (S)	0.06 (S)	≤0.008	>64 (R)	0.015 (S)	0.03 (S)
				ANFO B	5mg/Kg día	1 día								
				CAS	50 mg/día	14 días								
5	Rabdomiosarcoma	Orina	Vivo	FZ	6mg/ Kgdía	14 días	>8.0	0.5	2.0 (S)	0.25 (DP)	0.25	0.06 (S)	>16.0 (R)	0.06 (S)
				ANFO B	5mg/Kgdía	10 días								

Al igual que para *C.glabrata*, se presentaron cinco casos de resistencia *invitro* en *C.tropicalis*. Si bien hubo un caso de resistencia para Anfotericina B, un caso para Fluconazol, y uno para Voriconazol, esto no se vio reflejado en la clínica, puesto que no se utilizaron estos antifúngicos para el tratamiento.

Dos casos presentaron resistencia a Fluorocitocina, el cual es un antifúngico que no esta a la venta en México.

Tabla 24. Resistencia presentada por *C.parapsilosis*.

Paciente	Diagnóstico	Muestra	Estado	Tx. Antifúngico	Dosis	Duración	Patrón de Susceptibilidad CMI (µg/mL)							
							PZ	ANFO B	FZ	IZ	KZ	5-FC	VOR	CAS
1	FQ	LBA	Vivo	FZ	12mg/Kg día	21 días	0.06	2.0	1.0 (S)	0.12 (S)	0.015	0.06 (S)	0.015 (S)	0.5 (S)
2	Sepsis	Secreción endotraqueal	Vivo	N/A	N/A	N/A	0.03	2.0	2.0 (S)	0.12 (S)	0.03	>64 (R)	0.015 (S)	0.5 (S)

Se presentaron dos casos de resistencia *in vitro* en *C.parapsilosis*. Ambas cepas presentaron resistencia a Anfotericina B, y solo una de ellas resistencia a Fluorocitosina, que al igual que en *C.tropicalis* es intrínseca; no obstante, no hubo relación con la clínica, puesto que no se utilizó Anfotericina B como tratamiento.

Tabla 25. Resistencia presentada en *Trichosporon spp.*

Paciente	Especie	Diagnóstico	Muestra	Causa defunción	Tx. Antifúngico	Dosis	Duración	Patrón de Susceptibilidad CMI (µg/mL)							
								PZ	ANFO B	FZ	IZ	KZ	5-FC	VOR	CAS
1	<i>T.cutaneum</i>	Rabdomiosarcoma	Orina	Insuficiencia Respiratoria	FZ	6mg/Kg día	21 días	>8.0	4.0	256 (R)	>16.0 (R)	>16.0	32 (R)	8.0 (R)	>16.0 (R)
					CAS	50mg/día	S/D								
2	<i>T.cutaneum</i>	LAL	Orina	Choque séptico	FZ	6mg/Kg día	11 días	>8.0	4.0	64 (R)	>16.0 (R)	8.0	32 (R)	2.0 (DP)	>16.0 (R)
					ANFO B	5mg/Kg día	1 día								
3	<i>T.asahii</i>	LAL	Hemocultivo	Choque séptico	FZ	60mg/día	2 días	0.5	4.0	32 (DP)	0.25 (DP)	1.0	8.0 (I)	0.25 (S)	8.0 (S)
					ANFO B	5mg/Kg día	6 días								
					VOR	4mg/Kg día	1 día								
4	<i>T.asahii/ T.mucooides</i>	LAM	Orina	Choque séptico	FZ	6mg/Kgdía	15 días	>8.0	16.0	256 (R)	>16.0 (R)	>16.0	64 (R)	8.0 (R)	>16.0 (R)
5	<i>T.mucooides</i>	LAL	Orina	Choque séptico	FZ	S/D	7 días	>8.0	4.0	256 (R)	>16.0 (R)	>16.0	8.0 (I)	8.0 (R)	>16.0 (R)
					ANFO B	5mg/Kgdía	34 días								
					VOR	8mg/Kgdía	32 días								
6	<i>T.inkin</i>	LAL	Orina	Choque séptico	FZ	S/D	6 días	2.0	16.0	128 (R)	2.0 (R)	8.0	32 (R)	2.0 (DP)	16.0 (R)
					ANFO B	5mg/Kg día	1 día								
					CAS	50mg/día	21 días								
					VOR	8mg/ Kg día	37 días								

Paciente	Especie	Diagnóstico	Muestra	Causa Defunción	Tx. Antifúngico	Dosis	Duración	Patrón de Susceptibilidad CMI (µg/mL)							
								PZ	ANFO B	FZ	IZ	KZ	5-FC	VOR	CAS
7	<i>T.cutaneum</i>	LES/IRC	Orina	Choque séptico	N/A	N/A	N/A	>8.0	4.0	128 (R)	>16.0 (R)	16.0	64.0 (R)	2.0 (DP)	>16.0 (R)

Para el caso del género de *Trichosporon spp.* hubo un total de siete defunciones. Como se puede ver, los pacientes que adquirieron infección por este hongo levaduriforme tenían diagnósticos base, donde el sistema inmunológico estaba totalmente dañado, en muchos casos con neutropenia profunda. Las muestras fueron en su mayoría orinas y solo hubo un caso de hemocultivo.

Esta información concuerda con estudios previos, donde se menciona que *Trichosporon spp.* es un hongo levaduriforme que afecta principalmente a pacientes con enfermedades hematológicas (leucemias) y comienza en vías urinarias.⁽¹⁶⁾

En todos los casos la causa de defunción fue choque séptico, algunos de estos asociados a infecciones por bacterias y por otros hongos levaduriformes de diferente género como *C.krusei* y *C.albicans* o del mismo como es el caso del aislamiento de *T.asahii* y *T.mucoides*.

De acuerdo a los patrones de susceptibilidad presentados, hay una resistencia *in vitro* a casi todos los antifúngicos, por lo que el tratamiento en la clínica se vuelve complicado. Si bien, en estudios previos se recomienda dar Anfotericina B y un azólico de nueva generación como lo es Voriconazol^(16,18), de acuerdo a los resultados obtenidos, solo algunos presentaron sensibilidad o dosis dependencia a este último.

7. CONCLUSIONES.

- Los patrones de susceptibilidad obtenidos en este estudio para las especies más frecuentes del género *Candida spp.* son similares a estudios realizados en México^(13,21) donde se observa que *Candida albicans* (la especie de mayor frecuencia de aislamiento) es susceptible a los antifúngicos de mayor uso en el país para el tratamiento de infecciones fúngicas (Fluconazol, Itraconazol, Voriconazol, Caspofungina, Anfotericina B), tanto en poblaciones adultas como pediátricas. Si bien, Anfotericina B, no tiene puntos de corte establecidos, las cepas aisladas de esta especie muestran CMI's bajas. En este trabajo *C.albicans* fue la especie que causó la mayoría de las infecciones (56%), sin embargo el 43% restante corresponde a especies de *Candida* no *albicans*, de estas *C.glabrata* fue la especie obtenida con mayor frecuencia, lo cual tiene relación ya que el tipo de muestras de las que se aislaron las especies de *Candida* fueron principalmente de orina, mientras que en los estudios realizados por Reséndiz y Morales (2007), la segunda especie obtenida con mayor frecuencia en la población pediátrica de ese estudio fue *C.parapsilosis*, dato que también fue reportado por González y Cols (2008), ya que ambos estudios fueron realizados en cepas aisladas de sangre. Es importante considerar que *C.glabrata* es la especie que muestra mayor resistencia a los antifúngicos de mayor uso en la práctica clínica. En este estudio un 8.4% de los aislamientos de esta especie fueron resistentes al Fluconazol, el 75.1% a Itraconazol y el 16.7% obtuvo CMI's $\geq 2.0\mu\text{g/mL}$ para Anfotericina B. Esta tendencia fue igualmente obtenida por González y Cols (2008), donde con un total de 32 aislamientos de esta especie obtuvo porcentajes altos para Fluconazol (31.25%) e Itraconazol (43.3%), así como, CMI's $\geq 2.0\mu\text{g/mL}$ para Anfotericina B en el 12.5% de los aislamientos. Estos datos confirman la importancia de *C.glabrata* como una especie cuya frecuencia se ha incrementado y que representa un problema en el tratamiento de las infecciones fúngicas. Si bien *C.glabrata* es la especie que mostro mayor resistencia, en este estudio pudimos observar que *C.albicans* presenta pequeños porcentajes de resistencia para fluconazol

(1.1%) e itraconazol (2.2%) los cuales son antifúngicos a los que esta especie es altamente susceptible.

Por lo tanto, es importante dar seguimiento a este tipo de estudio, tanto en las frecuencias de aislamiento como en la determinación de los patrones de susceptibilidad, para que de esta forma podamos ver si se presentan cambios con el tiempo, ya que en nuestra población estas especies ocupan el primer y segundo lugar en frecuencias de aislamiento y comienzan a presentar resistencia a antifúngicos de frecuente uso en el INP (Fluconazol y Anfotericina B) tanto para el tratamiento profiláctico, así como en el tratamiento de infecciones fúngicas confirmadas, por lo que, el tener información de este tipo será de gran utilidad para la práctica clínica y para la determinación de los mecanismos de resistencia que se estén generando tanto para *C.glabrata* como para las demás especies de *Candida spp.*

- Es necesario seguir con los estudios de susceptibilidad en las especies aisladas con menor frecuencia del género *Candida spp.*, en particular *C.krusei*, *C.guilliermondii* y *C.famata*, ya estas especies presentaron Dosis Dependencia o Resistencia a los antifúngicos, por lo que el ampliar la población en estudio ayudará a obtener datos más confiables acerca de su susceptibilidad antifúngica.
- El género de *Trichosporon spp.* representa dificultad en la identificación de las especies que lo constituyen, proponemos realizar pruebas basadas en técnicas de biología molecular, las cuales representan mayor confiabilidad al ser un método más específico en el proceso de identificación.
- El género *Trichosporon spp.* tiene una resistencia *in vitro* a la mayoría de los antifúngicos, por lo que es necesario realizar un estudio de varios aislamientos de diferentes especies únicamente con este género, realizando una identificación confiable de las mismas y probando nuevas concentraciones de los antifúngicos o combinación de estos *in vitro*, exclusivamente para este género, y de esta manera establecer puntos de corte para cada una de las especies de *Trichosporon spp.*, para apoyar la terapia antifúngica en la

práctica clínica, puesto que como se pudo observar en este estudio, las infecciones se dan en pacientes graves, lo que conlleva a un tratamiento difícil, prolongado, y en ocasiones, con resultados fatales para el paciente.

- La terapia antifúngica aplicada en la práctica clínica para la erradicación de infecciones micóticas consisten en combinaciones de varios antifúngicos, esta estrategia es utilizada para disminuir la resistencia en las especies de hongos levaduriformes; no obstante, como se pudo observar, esta estrategia terapéutica, no en todos los casos resulta efectiva, ya que al cambiar de antifúngico, cuando el primero no funciona, además de que es administrado por tiempos prolongados como se muestra en este trabajo, se hace de manera empírica pues en muchas ocasiones se hace caso omiso de la tipificación del hongo levaduriforme, así como de su susceptibilidad *in vitro*. Si bien es cierto, que *in vivo* existen diversas variantes, tales como el estado inmunológico del paciente, diagnóstico, infecciones bacterianas asociadas, entre otros, *in vitro* estas condiciones no existen.

Las pruebas *in vitro* dan una orientación más exacta de que tratamiento debe administrarse. Por lo que los resultados obtenidos a partir de éstas, bien aplicados en la terapia antifúngica podrían influir directamente en: la reducción del tiempo de estancia hospitalaria, así como el tipo de fármaco antifúngico, la dosis administrada y tiempo de tratamiento, dándonos una idea muy clara de la resistencia *in vitro* de género-especie de hongos levaduriformes. Así mismo, sería de gran importancia realizar un estudio donde se pueda relacionar los resultados *in vitro* con resultados farmacocinéticos, para así poder conocer cómo es el comportamiento del antifúngico *in vivo* y de esta manera, correlacionar con lo obtenido *in vitro*.

8. FUENTES DE INFORMACIÓN.

- (1) Zapata-González F, Cardona Castro N (2012). Lo que debemos saber sobre los métodos de sensibilidad a los antifúngicos. *Rev CES Med*, 26(1),71-83.
- (2) Cantón-Lacasa E., Martín-Mazuelos E., Espinel-Ingroff A (2007). *Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A)* (2ªEd.). Guía Práctica de Identificación y Diagnostico en Micología Clínica, Bilbao. Disponible en: www.guía.reviberoammicol.com
- (3) Rex J., Alexander B., Andres D., Arthington-Skaggs B., Brown S., Chaturvedi V., Ghannoum M., Espinel-Ingroff A., Knapp C., Ostrosky-Zeichner L., Pfaller M.A., Sechan D., Walsh T(2008) . Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeast; Approved Standard-Third Edition. *CLSI Pennsylvania USA*,28(14).
- (4) Rodríguez-Tudela J.L., Rodero L., Cuenca-Estrella M., Córdova S (2001). IV Curso Hispano-Argentino de Micología Médica; Determinación de la Resistencia a los Antifúngicos en el Laboratorio. *Departamento de micología INEI, Centro Nacional de Microbiología*.
- (5) Bonifaz A (2010). *Micología Médica Básica* (3ªed). México: Mc.Graw Hill.
- (6) Sanglard D, Odds F (2001). Resistance of *Candida* species to antifungal agents; molecular mechanisms and clinical consequences. *THE LANCET Infectious Diseases*, 2, 73-85.
- (7) Carrillo Muñoz J, Abarca L, Quindos G (2001). Métodos colorimétricos para la determinación de la sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos. *Rev Iberoam Micol*, 18, 150-155.
- (8) Mellado E, Cuenca-Estrella M, Tudela-Rodríguez JL (2002). Importancia clínica de los mecanismos de resistencia de los hongos filamentosos a los antifúngicos. *Enferm Infec Microbiol Clin*, 20(10), 523-530.
- (9) Eggimann P, Garbino J, Pittet D (2003). Epidemiology of *Candida* species infection in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis*, 3,685-702.
- (10) Linares-Sicilia Ma. J., Solís-Cuesta F (2007). *Identificación de Levaduras* (2ªEd.). Guía Práctica de Identificación y Diagnostico en Micología Clínica, Bilbao. Disponible en: www.guía.reviberoammicol.com
- (11) García Martos P, García Agudo R, Hernández Molina J M, Marín P, Tallero E, Mira J.(1998). Identificación de levaduras de interés clínico en el medio de cultivo CHROMagar *Candida*. *Rev Iberoam Micol*, 15,131-135.

- (12) Pontón J. La pared celular de los hongos y el mecanismo de acción de la anidulafulgina (2008). *Rev Iberoam Micol*, 25,78-82.
- (13) González M G, Elizondo M, Ayala J (2008). Trends in Species Distribution and Suscetibility of Bloodstream Isolates of *Candida* Collected in Monterrey, México, to seven Antifungal Agents: Results a 3-Year (2004-2007) Surveillance Study. *Journal of Clinical Micology*, 9(46), 2902-2905.
- (14) Lehrnbecher T, Groll A (2011). Invasive fungal infection in the pediatric population. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, 9(3): 275-278.
- (15) Giusiano E. Micosis oportunistas [pdf. En línea] [Acceso 12 de Octubre 2015]. Disponible en:
<http://ecaths1.s3.amazonaws.com/catmicromed/APUNTE%20Micosis%20oportunistas.pdf>
- (16) Chagas-Neto, Chaves M.G., Colombo L.A. (2008). Update of the Genus *Trichosporon*. *Mycopathologia* , 166,121-132.
- (17) Tapia P. C., Género *Trichosporon* (2009). *Rev. Chil Infect*, 26(3), 263-264.
- (18) Paphitou N., Ostrosky-Zeichner L., Paetznick L.V., Rodríguez J. R., Chen E., Rex J (2002). In vitro antifungal Susceptibilities of *Trichosporon* species. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(4), 1144-1146.
- (19) Siemens (2008).Microscan Panel para la Identificación Rápida de Levaduras. Manual de utilización. Siemens Healthcare Diagnostics Inc. USA.
- (20) BIOMÉRIEUX (2008).APID ID32. Sistema de Identificación de Levaduras. SA. Durham, USA 2008.
- (21) Reséndiz-Sanchez J., Morales-Aguirre .J (2007). Factores asociados a mortalidad por fungemia causados por *Candida sp.* en niños. *Bol. Med Hosp Infat Mex*, 64, 91-98.
- (22) Ostrosky-Zeichner L., Rex J., Pappas P., Hamill R., Larsen R., Horowitz H., Powderly W., Hyslop N.,Kauffman C., Cleary J., Mangino J., Lee J (2003). Antifungal Susceptibility Survey of 2,000 Bloodstream *Candida* Isolates in the Unites States. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* , 47(10), 3149-3154.
- (23) P.faller M.A., Diekema D.J (2004). MINIREVIEW Rare and Emerging Opportunistic Fungal Pathogens: Concern for Resistance beyond *Candida albicans* and *Aspergillus Fumigatus*. *Journal Clinical Microbiology*,42(10), 4419-4431.

- (24) Shane-Tsai M., Liang-Yang Y., Huei-Wang A., Shinn-Wang L., Lu D., Hong-Liou C., Yun-Hsieh L., Jung-Wu S., Fang-Chen M., Yuan-Shi Z., Jung-Lo H (2012). Susceptibilities to Amphotericin B, Fluconazole and Voriconazole of *Trichosporon* Clinical Isolates. *Mycopathologia*, 174, 121-130.
- (25) Pfaller M.A., Diekema D. J., Messer S.A., Boyken L., Hollis R.J., Jones R.N (2003). International Fungal Surveillance Participant Group. In vitro Activities of Voriconazole, Posaconazole and four Licensed Systemic Antifungal Agents againsts *Candida* Species Infrequently Isolated from Blood. *Journal of Clinical Microbiology* ,41(1), 78-83.
- (26) Pfaller M.A., Messer S.A., Boyken L., Huynh H., Hollis R.J., Diekema D.J (2002). In vitro Activities of 5-Fluorocytosine against 8,803 Clinical Isolates of *Candida spp.*: Global Assessment of Primary Resistance Using National Committee for Clinical Laboratory Standards Susceptibility Testing Methods. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(11), 3518-3521.
- (27) Rodríguez-Tudela J.L., Díaz-Guerra T., Mellado E., Cano V., Tapia C., Perkins A., Gómez-López A., Rodero L., Cuenca-Etrella M (2005). Susceptibility Patterns and Molecular Identification of *Trichosporon* Species. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*,49(10), 4026-4034.
- (28) Pappas G.P., Kauffman A.C., Andes D., Benjamin K.D., Calandra F.T., Edwards J.E., Filler G.S., Fisher J.F., Kullberg B.J., Ostrosky-Zeichner L., Reboli C.A., Rex H.J., Sobel D.J (2009) . Clinical Practice Guidelines for the Management of Candidiasis: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases* 2009 ,48(5).

