



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS Y**  
**ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

“ESTADO ACTUAL DE LA RESISTENCIA ANTIFÚNGICA EN AISLADOS DE PACIENTES CON  
ONICOMICOSIS EN UN HOSPITAL DE ALTA ESPECIALIDAD”

# TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRO EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA:

DANIEL RICARDO GARCÍA PÉREZ

TUTOR DE TESIS

DR. LUIS JAVIER MÉNDEZ TOVAR

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.

MARZO 2021



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.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES DR. BERNARDO  
SEPÚLVEDA  
LABORATORIO DE INVESTIGACIÓN MÉDICA EN  
DERMATOLOGÍA Y MICOLOGÍA  
Tel. 56276900 ext. 21480

---



## **PROYECTO DE INVESTIGACIÓN**

*“Estado actual de la resistencia antifúngica en aislados de pacientes con onicomycosis en un hospital de alta especialidad”*

### **INVESTIGADOR RESPONSABLE**

Dr. en CBM Luis Javier Méndez Tovar

Laboratorio de Investigación Médica en Dermatología y Micología, Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI, IMSS

Correo: [ljmt@unam.m](mailto:ljmt@unam.m) Teléfono: 56 276900 ext:21480

### **INVESTIGADORES ASOCIADOS**

Dra. en CBM Francisca Hernández Hernández

Unidad de Micología, Facultad de Medicina, UNAM

Correo: [francis56@unam.mx](mailto:francis56@unam.mx) Teléfono: 5623 2459

M. en CBM María de los Ángeles Patricia Manzano Gayosso

Unidad de Micología, Facultad de Medicina, UNAM

Correo: [angelesmg@unam.mx](mailto:angelesmg@unam.mx) Teléfono: 5623 2459

Dra. María Luisa Peralta Pedrero

Profesora adjunta y Coordinadora de Investigación del

Centro Dermatológico Dr Ladislao de la Pascua

Profesora y tutora PMyCMOS UNAM

Miembro del Sistema Nacional de Investigadores

Correo: [luisa.peraltap@gmail.com](mailto:luisa.peraltap@gmail.com)

### **ALUMNO:**

Dr. Daniel Ricardo García Pérez Medico Dermatólogo adscrito a HGR1 Mc. Gregor. IMSS

Correo: [daniel8ag@outlook.com](mailto:daniel8ag@outlook.com) Teléfono celular: 56 11271674

MÉXICO  
GOBIERNO DE LA REPÚBLICA



**Dirección de Prestaciones Médicas**  
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud  
Coordinación de Investigación en Salud



### Dictamen de Aprobación

Miércoles, 28 de noviembre de 2018

Ref. 09-B5-61-2800/201800/ 1031

Dr. Luis Javier Méndez Tovar  
Unidad de Investigación en Epidemiología Clínica, Hospital de Especialidades Siglo XXI (U INV  
MED EPID CLIN H ESPEC S XXI)  
Nivel Central

Presente:

Informo a usted que el protocolo titulado: **Estado actual de la resistencia antifúngica en aislados de pacientes con onicomycosis en un hospital de alta especialidad**, fue sometido a la consideración de este Comité Nacional de Investigación Científica.

Los procedimientos propuestos en el protocolo cumplen con los requerimientos de las normas vigentes, con base en las opiniones de los vocales del Comité de Ética en Investigación y del Comité de Investigación del Comité Nacional de Investigación Científica del IMSS, se ha emitido el dictamen de **APROBADO**, con número de registro: R-2018-785-134.

De acuerdo a la normatividad vigente, deberá informar a esta Comité en los meses de enero y julio de cada año, acerca del desarrollo del proyecto a su cargo. Este dictamen sólo tiene vigencia de un año. Por lo que en caso de ser necesario requerirá solicitar una reaprobación al Comité de Ética en Investigación del Comité Nacional de Investigación Científica, al término de la vigencia del mismo.

Atentamente,

Dr. Fabio Salamanca Gómez  
Presidente  
Comité Nacional de Investigación Científica

Anexo comentarios:  
Se anexan documentos  
ANN/ iah. F-CNIC-2018-197

**IMSS**

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

## **ABREVIATURAS**

**CLSI:** Clinical and laboratory standards institute

**MIC:** Minimal inhibitory concentration

**EUCAST:** European committee on antibiotic susceptibility testing

**ERG11:** Lanosterol 14-alpha demethylase

**ABC:** ATP-binding cassette

**MFS:** Major facilitator family

**PDR:** Pleiotropic drug resistance

**CDR:** Candida drugs resistance

**MDR:** Multidrug resistance

**TAC1:** Transcriptional activator of CDR

**MRR1:** Multidrug resistance regulator 1

**SQLE:** Squalene epoxidase

**PCR:** Polymerase chain reaction

**CFU:** Colony forming unit

## INDICE

I. RESUMEN .....	1
II. ANTECEDENTES .....	2
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA .....	16
IV. JUSTIFICACIÓN .....	17
V. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	18
VI. HIPÓTESIS .....	18
VII. OBJETIVO GENERAL.....	19
VIII. OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	19
IX. PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS .....	20
X. ANÁLISIS ESTADÍSTICO .....	28
XI. RESULTADOS .....	29
XII. DISCUSIÓN.....	38
XIII. CONCLUSIONES.....	45
XIV.- CONSIDERACIONES ÉTICAS .....	46
XV.- CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD.....	47
XVI.- CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	50
XVII.- INSTITUCIONES PARTICIPANTES Y ACTIVIDADES A REALIZAR EN CADA CENTRO .....	51
XVIII.- RECURSOS FINANCIEROS .....	52
XIX.- ANEXOS .....	53
XX. REFERENCIAS .....	71

## I. RESUMEN

### *“Estado actual de la resistencia antifúngica en aislados de pacientes con onicomicosis en un hospital de alta especialidad”*

**Antecedentes:** La resistencia antifúngica (RA) es un tema de estudio relativamente reciente que hasta los años ochenta era poco reportado. El método actual para medir la resistencia antifúngica de forma cuantitativa es la micro-dilución en placa. La onicomicosis es la principal infección que afecta las uñas. La alta prevalencia de onicomicosis, cronicidad, fácil acceso a la obtención de muestra, podría permitir a los investigadores proponer esta enfermedad como un modelo de estudio para determinar la frecuencia de resistencia antifúngica, así como los factores clínicos y epidemiológicos asociados.

**Objetivo:** Determinar la frecuencia de resistencia antifúngica y los factores asociados a resistencia antifúngica en aislados de pacientes con onicomicosis de un hospital de alta especialidad.

**Material y Métodos:** Se obtuvieron aislados fúngicos de pacientes con sospecha de onicomicosis atendidos en el Hospital de Especialidad del CMN Siglo XXI. En los aislados fúngicos se realizaron pruebas *in vitro* de sensibilidad mediante el método de microdilución en placa siguiendo las normas de la *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*.

**Análisis estadístico:** Se realizó un análisis descriptivo de las variables clínicas y epidemiológicas de los pacientes. Para el caso de variables cuantitativas se calcularon medidas de tendencia central y de dispersión; en el caso de variables cualitativas, se determinaron medidas de frecuencia. Para el contraste de hipótesis y la comparación entre subgrupos se utilizó Ji cuadrada para las variables cualitativas y U de Mann Whitney para las cuantitativas. Los datos se analizaron utilizando el programa SPSS 23.

**Resultados:** Se estudió un total de 43 pacientes con onicomicosis. La media de duración en meses de la onicomicosis fue de 81 SD± 64 meses. Las formas clínicas más frecuentes fueron la distrófica total con 29 casos, 67.4% y subungueal distal con 14 casos, 32.6%. Se identificó un predominio de especies del género de *Candida* con un total de 34 aislados, 3 del género *Rhodotorula* (7%) y 6 del género *Trichosporon* (14%). De acuerdo con el análisis bivariado realizado, solo el antecedente de tratamiento antifúngico previo fue el factor asociado con mayor frecuencia de resistencia antifúngica con una  $p < 0.001$  y un OR de 6.9 IC: 1.8-26. Por otra parte, la forma clínica de onicomicosis ( $p= 0.140$ ), antecedente de inmunosupresión ( $p= 0.242$ ) y evolución de la enfermedad ( $p=0.575$ ) no fueron estadísticamente significativos.

**Conclusiones:** La prevalencia de resistencia antifúngica en especies levaduriformes en pacientes con onicomicosis del hospital de especialidad de CMN Siglo XXI fue del 58.1%.

El antecedente de exposición previa a antimicóticas en los pacientes demostró ser un factor asociado al aumento en la frecuencia de resistencia antifúngica en los aislados micóticos ( $p<0.001$ , OR: 6.9)

Las características del paciente como forma clínica de onicomicosis, inmunosupresión y tiempo de evolución de la onicomicosis no se asociaron con aumento en la frecuencia en la resistencia en los aislados micóticos.

## II. ANTECEDENTES

### Resistencia antifúngica

La resistencia a los antifúngicos es un tema de estudio relativamente reciente, debido a que hasta los años 80 del siglo pasado, este fenómeno era poco reportado.[1] Sin embargo, el número de casos de micosis con falla terapéutica se ha incrementado, debido posiblemente a cambios en las características de los pacientes *v.g.* aumento en la esperanza de vida, SIDA, enfermedades autoinmunes, incremento de cáncer en todas sus formas, trasplantes, terapias con inmunosupresores etc. [2] Por otra parte, los hongos han desarrollado diversas estrategias para anular el efecto de los antimicóticos, por ejemplo, desarrollo de bombas para eliminar el antifúngico, modificación de las moléculas blanco, formación de biopelículas y mutación de genes enzimáticos. [3] Finalmente, las condiciones ecológicas también pueden incidir en la falta de respuesta terapéutica, como el material sintético del calzado y uso de calzado cerrado que propicia el calor y la humedad.[4]

La falla terapéutica en el contexto de una micosis, se refiere a la falta de resolución de la infección micótica posterior a realizar un diagnóstico de certeza e indicar un tratamiento adecuado. De los factores que pueden ocasionar falla terapéutica probablemente el más importante es la resistencia antifúngica expresada por los agentes infecciosos.[5] Por otra parte, como se mencionó previamente otros factores asociados a la falla terapéutica son factores del hospedero como la inmunosupresión, trastornos de absorción y alteraciones circulatorias, que no necesariamente se asocian a resistencia *in vitro* de la cepa.[5]



Se considera que un microorganismo es resistente cuando la Concentración Mínima Inhibitoria (MIC, por sus siglas en inglés) excede los límites de susceptibilidad dados para una cepa salvaje.[5]

La Resistencia antifúngica se clasifica en dos tipos: la intrínseca o también llamada primaria y la resistencia secundaria. En la resistencia primaria los hongos son intrínsecamente resistentes porque carecen de las moléculas blancos, o desde su aparición tienen mecanismos que les permiten evitar el efecto, [6] por ejemplo *Candida krusei* tiene una resistencia primaria a fluconazol. Mientras que, recibe el nombre de resistencia secundaria aquella desarrollada como consecuencia de la exposición a un fármaco.[6] Este último factor asociado, actualmente ha sido el más estudiado y demostrado como factor de inducción de resistencia antifúngica en diversos estudios.[7] Se desconoce actualmente si existen algún otro factor asociado relacionado al hospedero que pudiera favorecer el desarrollo de resistencia antifúngica.

Entre los estudios que han analizado este fenómeno se encuentra un estudio de 5 años de seguimiento realizado en el St. Luke's Episcopal Hospital, Houston, Texas, en donde se aisló un total de 329 cepas, observando un aumento en el aislamiento de cepas resistentes al comparar los resultados al principio y al final del estudio, también hubo un cambio en la frecuencia de las especies causales: al inicio del estudio, el porcentaje de aislamiento de *Candida albicans* era del 87% y el resto de las especies representaba el 13% (en las que la resistencia a antifúngicos es más frecuente); al final del estudio, solo el 31% de las especies aisladas correspondieron a *C. albicans*. [8]

La evolución de la resistencia antifúngica en especies de *Candida* ha sido estudiada también en nuestro país. *González G. y cols.* realizaron un estudio longitudinal en el periodo 2004-2007 para determinar la distribución de especies de *Candida* y su sensibilidad mediante

microdilución en caldo de aislados sanguíneos, en Monterrey, México. Como resultado aislaron 398 especies de *Candida*, distribuidos de la siguiente manera: *C. albicans* 127, *C. parapsilosis* 151, *C. tropicalis* 59, *C. glabrata* 32, *C. Krusei* 11, *C. guilliermondii* 5, *C. famata* 4, *C. utilis* 2, *C. zeylanoides* 2, *C. rugosa* 2, *C. lusitaniae* 2 y *C. boidinii* 1. En los resultados de sensibilidad las especies de *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* fueron en general sensibles a fluconazol y anfotericina. Por otra parte *C. glabrata*, 31.3% de sus aislados fueron resistentes a fluconazol, 43.3% a itraconazol y 12.5% a anfotericina.[9]

En otro estudio realizado por *Robledo-Leal E. y cols.* se estudió la sensibilidad a tiabendazol y fluconazol de diferentes especies de dermatofitos mediante macrodilución en caldo. Se estudiaron un total de 45 dermatofitos (*T. rubrum* (10), *T. mentagrophytes* (10), *T. tonsurans* (10), *M. canis* (10) y *E. floccosum* (5) y se midieron las MICs para la inhibición del 50% y 90% de los aislados a los 5 y 7 días. El estudio concluyó que los niveles de MICs para Tiabendazol fueron menores comparados con fluconazol en todas las especies, excepto para *M. canis* en donde se obtuvieron valores similares de MICs.[10]

Es conocido que la interacción del agente causal con el agente antimicrobiano puede favorecer la aparición de cepas resistentes, experiencia que se adquirió con la resistencia bacteriana a los antibióticos, por lo tanto es importante transpolar este factor de exposición previa en cepas micóticas para el desarrollo de resistencia antifúngica, esto nos obliga a tomar en cuenta variables como el uso indiscriminado de antimicóticos, la poca regulación en el uso de antimicóticos sistémicos y tópicos, así como la mala prescripción.[1] En Reino Unido, tomando en cuenta esta lógica, existe una regulación más estricta en la venta de antifúngicos, siendo fluconazol en monodosis el único antifúngica oral disponible para el manejo de vulvovaginitis y balanitis.[1] En nuestro país, los antimicóticos, sean orales o tópicos, no requieren receta médica para su venta.

## Métodos de estudio de la resistencia antifúngica

La Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) es la dosis mínima de concentración de un antimicrobiano que resulta en una reducción significativa o falta de crecimiento total de un microorganismo. [11] Existen técnicas convencionales y nuevas para el estudio de la MIC y por lo tanto de la sensibilidad micótica. Las técnicas convencionales con aceptación estandarizada y universal son las desarrolladas por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) y el *European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing* (EUCAST) las cuales están basadas en procedimientos de micro dilución en placa, que mide la concentración mínima inhibitoria del crecimiento de un microorganismo en una placa de 96 pozos que en cada columna contiene un antifúngico a diferentes concentraciones conocidas. [11] El inconveniente de estos procedimientos es que son complejos, consumen demasiado tiempo y por lo tanto no son usados de forma rutinaria. Por otra parte, existen pruebas estandarizadas semicuantitativas que han demostrado un desempeño adecuado en discernir entre la susceptibilidad entre cepas salvajes y cepas con sensibilidad intrínseca o adquirida. Entre estas, las técnicas de difusión en disco para levaduras y filamentos también están desarrolladas por la CLSI las cuales son más simples, económicas y además son adaptables para medicamentos hidrosolubles como la 5 flurocitosina y fluconazol.[12] Además, existen métodos comerciales que cuantifican la sensibilidad antifúngica de forma directa. La forma de estandarización de estas técnicas fue mediante la correlación de la zona de inhibición obtenida en disco con las pruebas de micro dilución en caldo. Dentro de este grupo se incluye la prueba E-test (AB Biodisk, Solna, Sweden), en donde la elección del medio de crecimiento es crítica y el agar RPMI es el más útil. El estudio es adaptable tanto para levaduras como hongos

filamentosos, además de ser un método reproducible. Otro método utilizado es el *Sensititre YeastOne* (TREK Diagnostic System) que utiliza un panel antifúngico colorimétrico en una placa de microdilución [11, 12] El VITEK 2 es un sistema de prueba para sensibilidad antifúngica totalmente automatizada, el cual ha sido comparado con el estándar de referencia de microdilución en placa, no obstante, este es solo útil para medir resistencia antifúngica en levaduras.[12]

## **Onicomycosis**

Dentro de las infecciones fúngicas, la onicomycosis es la infección más común en las uñas y es causada por diferentes agentes: levaduras, hongos filamentosos y dermatofitos, (hongos filamentosos altamente queratinofílicos) [13] Las levaduras asociadas con mayor frecuencia son del género *Candida*; de los hongos filamentosos, tenemos diferentes especies de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Scopulariopsis* y *Acremonium* y finalmente los dermatofitos, agentes queratinofílicos que habitualmente se desarrollan en áreas corporales de temperatura y humedad elevadas, condiciones ecológicas que se presentan en los pies de las personas que usan calzado cerrado y en consecuencia este tipo de hongos pueden ser agentes causales hasta en 75% de los casos de onicomycosis.[13]

La prevalencia de la onicomycosis va en aumento y representa unas de las infecciones dermatológicas más frecuentes. En Estados Unidos se calcula que la onicomycosis afecta del 7-14% de la población, lo que genera el 50% de los padecimientos ungueales. [14] En México puede llegar a representar el 24% de las consultas dermatológicas. [15]

En un estudio realizado en el Hospital de Especialidades de CMN Siglo XXI en donde a partir de 22,502 estudios micológicos realizados en un periodo de 20 años, se diagnosticó un total

6547 onicomicosis. De estos pacientes se obtuvieron aislados diferentes: levaduras 51.4%; dermatofitos 32.9 % y mohos 15.5 %. [16]

De acuerdo con *Baran R.*[17] las onicomicosis se clasifican en: ***onicomicosis subungueal distal y lateral (OSD-L)***, donde los dermatofitos son los principales agentes causales y la parasitación inicia por el borde libre de la uña y avanza hacia la base de la uña; ***onicomicosis subungueal proximal (OSP)***, causada principalmente por levaduras, y que en ausencia de una predisposición evidente como la humedad, son marcadores de inmunosupresión, en este tipo de onicomicosis la parasitación se inicia a partir del borde proximal; ***onicomicosis blanca superficial (OBS)***, causada principalmente por especies de dermatofitos y que no se asocia directamente a inmunosupresión; ***Onicomicosis distrófica total (ODT)***, que se caracteriza por destrucción de toda la uña.

La prevalencia de parasitación ungueal en pacientes inmunodeprimidos, en cualquiera de sus formas clínicas, es mayor que en la población general y a pesar de que los dermatofitos, no son capaces de generar invasión a órganos internos como: pulmón, riñón corazón etc., por ausencia de queratina, estos representan una fuente de infección para la diseminación a otras áreas de la piel. [18] Por otra parte, la onicomicosis puede favorecer la sobreinfección por agentes bacterianos que pueden poner en peligro la vida del paciente inmunosuprimido.[18]

Para el tratamiento de la onicomicosis se dispone de medicamentos tópicos, sistémicos, laser y terapia fotodinámica, pero la resolución de la parasitación depende del uso de tratamiento sistémico, reservando el tratamiento tópico en monoterapia en caso de embarazo, falla hepática, onicomicosis blanca superficial, hipersensibilidad al fármaco sistémico y para acortar el periodo de tratamiento sistémico. [19, 20] Los tratamientos de láser y terapia fotodinámica están siendo utilizados sobre todo para dar manejo al problema en la formación de biopelícula [19]

La elección de la mejor alternativa depende de diversos factores como el tipo subclínico, agente causal, severidad de la onicomicosis, efectos adversos del tratamiento y los costos del mismo. [19]

La onicomicosis producida por dermatofitos en donde se afecte menos del 50% de la uña (sin afección a matriz/lúnula) se recomienda manejo combinado con terbinafina 250 mg vía oral en combinación con diversos antifúngica tópicos como efinaconazol, amorolfina, tavaborole y ciclopirox con una duración de 6 semanas.[19-21] En el caso de afección superior al 50% (con afección a matriz/lúnula) se recomienda el uso de terbinafina 250 mg vía oral durante un periodo de 6 semanas si no afecta uña de primer dedo y durante 12 semanas si está afectada.[19-21]

Otras alternativas de tratamiento sistémico son los azólicos, como el fluconazol e itraconazol. El itraconazol se utiliza como alternativa de onicomicosis por dermatofitos a dosis de 200 mg al día durante 6 semanas si no se afecta uña de primer dedo y 12 semanas si se afecta ó en ciclos de 200 mg 2 veces al día durante una semana por 3 meses [19-21]

Por otra parte, en onicomicosis por levaduras del género *Candida*, el tratamiento con azólicos es la piedra angular. El más utilizado es itraconazol, a la misma dosis que en onicomicosis por dermatofitos.[19]

## **Resistencia antifúngica en onicomicosis**

Cuando se inició el uso de antifúngicos sistémico para la onicomicosis, éstos mostraron buena respuesta con índices de curación cercana al 90% cuando se administraba en tiempo y dosis adecuada.

En las dos últimas décadas, el incremento de casos de falla terapéutica que se observa en pacientes con onicomicosis y también en otras infecciones fúngicas es un fenómeno que se presenta también en centro médicos de alta especialidad, como el Hospital de Especialidades en donde se llevó a cabo este estudio. En base a ello, en el año 2008, en el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI del IMSS, se realizó un primer estudio para determinar la resistencia a los antifúngicos de aislados micóticos tanto de infecciones superficiales como de profundas. Se analizó un total de 76 aislamientos, de los cuales 36 correspondieron a dermatofitos; a estos se les determinó el perfil de sensibilidad por medio de la técnica de E-Test (estudio semi-cuantitativo); los resultados mostraron que los dermatofitos aislados en ese centro tenían una resistencia del 19.4% a uno o más de los compuestos azólicos [22, 23] En otro estudio mexicano, Manzano-Gayosso y colaboradores estudiaron la sensibilidad antifúngica a compuestos azólicos de aislados levaduriformes de onicomicosis en 4 hospitales de la Ciudad de México. Obtuvieron un total de 166 aislamientos a los cuales determinaron la sensibilidad a ketoconazol, itraconazol y fluconazol mediante el método de microdilución en placa. Como resultado, el 30.7% (51/166 aislados) mostraron resistencia a uno o varios azoles probados [24]

## **Genes de resistencia antifúngica**

El estudio de la resistencia antifúngica, aunque de manera lenta es cada vez más importante en todo el mundo y actualmente se ha demostrado en algunos hongos la existencia de genes asociados a los mecanismos de resistencia antimicótica previamente mencionados. Estos trabajos se han realizado principalmente en levaduras del género *Candida* y con mayor frecuencia asociados a fármacos azólicos.

A continuación, se presenta un resumen del mecanismo de resistencia antifúngica y los genes asociados.

### **Mecanismos de resistencia a los azoles**

#### **Alteración en las enzimas que intervienen en la biosíntesis de ergosterol: Sustitución del Erg11 (Cyp51A)**

Los azoles actúan interrumpiendo la producción de ergosterol a través de la inhibición de la enzima Erg11 en el caso de levaduras, la cual es homóloga a Cyp51A en hongos filamentosos). Esta enzima cataliza la remoción del grupo 14alfa-methyl del lanosterol. Dentro de los mecanismos más descritos en la resistencia en azoles es la sustitución de aminoácidos en el sitio de unión al fármaco; este mecanismo es descrito principalmente en *Candida*. Aproximadamente 140 modificaciones han sido descritas en cepas resistentes, muchas de las cuales tienen efectos aditivos. Dos de las alteraciones más comunes descritas en *C. albicans* son R467K y G464S. Otros hongos en los que se ha reportado estas mutaciones son en *Candida glabrata*, *C. neoformans* y *A. fumigatus*. [25]



### **Alteración de las enzimas implicadas en la biosíntesis de ergosterol (sobre-expresión)**

Este mecanismo de resistencia ha sido descrito en *Candida albicans*. La sobreexpresión del receptor contribuye al incremento en la necesidad de fármaco y por lo tanto la reducción en la susceptibilidad del microorganismo. Los cambios moleculares han sido descritos como amplificaciones del gen **Erg11** por duplicación de cromosomas o aumento de factores de transcripción como Upc2, este último dado por cambio del aminoácido glicina por aspartato en la posición 648 (G648D). [25]

### **Bombas de eflujo**

La presencia de bombas de eflujo es un mecanismo presente en muchas especies de hongos. En los hongos se han descrito dos sistemas encargados de estos sistemas de eflujo: La superfamilia ABC (ATP-binding cassette) y los MFS (major facilitator family). Dentro de los múltiples ABC existentes, el de mayor importancia es el PDR (pleiotropic drug resistance).[25] Los **CDR** (candida drugs resistance) son un subgrupo de genes de la superfamilia ABC que han sido los más descritos en especies de *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. neoformans*. De forma similar a los CDR, los **MDR** (multidrug resistance) son genes asociados al aumento en la actividad de las bombas de eflujo y que están asociados con la función de los MFS; estos también se han descrito en especies de *C. albicans* y *C. dubliniensis*. Además del aumento en la expresión de los genes CDR, se ha descrito un aumento en los factores de transcripción asociado al aumento de actividad de los CDR y MDR; entre estos los más descritos son el TAC1 (transcriptional activator of CDR) y MRR1 (multidrug resistance regulator 1). [25]

**Mutaciones en la enzima 5, 6 desaturasa (Erg3):** Enzima responsable de la producción y acumulación de un precursor de ergosterol que es tóxico para las levaduras, 14 alfa-metil-3-6-diol

(intermediario en la biosíntesis de ergosterol). Las mutaciones puntuales implican la sustitución D19E (cambio de ácido aspártico por ácido glutámico en la posición 19), lo que produce inhibición de la enzima y confiere resistencia a los azoles con acumulación de un esteroide no tóxico para la célula que es, 14 alfa-metilfecosterol. [25]

### **Mecanismo de resistencia en equinocandinas**

Las fallas al tratamiento, resultado de la resistencia a equinocandinas, es secundario a la sustitución de aminoácidos en la subunidad Fks de la glucano-sintetasa, codificada por el gen **FKS1**. Esta enzima es necesaria para la producción de 1,3-beta-D glucano, el cual forma parte esencial de la pared celular; por tal motivo, no es afectada por el funcionamiento de los MDR. Las especies en las que ha sido descrito son *C. glabrata*, *C. albicans* y *Aspergillus fumigatus*. [25]

### **Mecanismo de resistencia a alilaminas**

Mutaciones puntuales en el gen SQLE

Las alilaminas son antifúngicos que tienen como blanco la enzima SQLE. Su uso es extenso en el manejo de infecciones causadas por dermatofitos. La descripción de mutaciones puntuales en el gen SQLE han sido descritas en cepas resistentes a este tipo de fármacos. Las mutaciones descritas en este gen consisten en sustituciones de aminoácidos en cuatro posiciones (Leu393, Phe397, Phe415 e His440) las cuales han sido determinadas en especies de *Trichophyton*. [26, 27]

En la Tabla 1 se indican los genes de resistencia que han sido descritas en diferentes géneros y/o especies de hongos.

Tabla 1: Principales genes de resistencia antifúngica

Gen de resistencia antifúngica	Especie fúngica descrita	Fármaco implicado	Mecanismo descrito
<b>Erg11 o Cyp51A</b>	<i>Candida albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. tropicalis</i> , <i>C. krusei</i> , <i>Cryptococcus neoformans</i> , <i>Aspergillus fumigatus</i>	Azoles	Mutación en el sitio de unión al fármaco (sustitución de aminoácidos), sobreexpresión del sitio de unión.  Factores de transcripción descritos: Upc2p
<b>CDR 1 y CDR2</b>  <b>MDR1 o PDR1</b>	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. neoformans</i>  <i>C. albicans</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>A. fumigatus</i> , <i>Trichophyton</i> spp.	Azoles	Activación de los sistemas ABC (ATP-binding cassette, PDR) y los MFS. (Major facilitator family). Actúan como bombas de salida para el fármaco.  Factores de transcripción asociados: TAC1, MRR1
<b>FKS1</b>	<i>C. glabrata</i> , <i>C. albicans</i> y <i>A. fumigatus</i> .	Equinocandinas	Sustitución de aminoácido en la subunidad Fks glucano-sintetasa.

Además de los estudios *in vitro*, la correlación entre resistencia antifúngica y genes de resistencia ha sido estudiada sobre todo en pacientes infectados con VIH. Por ejemplo, Martínez *M et al.* evaluaron mediante un estudio longitudinal la evolución de la resistencia antifúngica de aislados de *C. albicans* en un paciente infectado de VIH en terapia continua con fluconazol por candidosis orofaríngea. Durante su seguimiento de 43 meses se detectó un aumento progresivo de la resistencia antifúngica de los aislados, lo que correlacionó con una sobreexpresión de los genes *MDR* y *CDR*. [7] . En México, los estudios de genes de resistencia han sido evaluados en dos investigaciones. Como trabajo de tesis, *De Gante y cols* evaluaron la frecuencia de resistencia antifúngica y de mutaciones en genes asociados de especies de *Candida* de pacientes ginecológicas. Como resultados obtuvieron 47 muestras positivas a desarrollo de *Candida*, con un 42.6% de sensibilidad intermedia y 42.6% de resistencia total a azoles; no obstante, no encontraron diferencia en la frecuencia de presentación de las mutaciones en los genes *UPC2*, *TAC1*, *MRR1* y *ERG3* en las cepas sensibles y resistentes, por lo que en este estudio ninguna de las mutaciones estudiadas predecía la presencia de resistencia en las cepas de *Candida* incluidas. [28] En un estudio realizado en Chile por *Fuentes M y cols.*, los autores evaluaron los mecanismos de resistencia a compuestos azólicos y equinocandinas de 20 cepas clínicas mediante la expresión de genes de resistencia. Concluyeron que entre las diferentes cepas no existe un mecanismo único; no obstante, el mecanismo de resistencia más prevalente fue la sobreexpresión de bombas de eflujo en un 60% [29]

### **Formación de biopelículas**

La biopelícula se define al conjunto de células microbianas rodeadas por una matriz polimérica que facilita la adhesión entre células y entre superficies. Las biopelículas fúngicas

colonizan superficies inertes y favorecen las infecciones intrahospitalarias asociadas a accesos venosos, sobre todo descrito en el género *Candida* [21]

Por otra parte, la onicomycosis no es una patología exenta de este problema, debido a que se ha demostrado la capacidad de los dermatofitos para formar biopelículas en conjunción con bacterias, por lo que se ha propuesto que este mecanismo de resistencia a antifúngicos y a la inmunidad del hospedero sea un factor adicional para la falla terapéutica y la cronicidad de la enfermedad. [30]

A casi una década de estos resultados obtenidos, los estudios en donde se evalúa la sensibilidad, en nuestro país, siguen siendo escasos y por otra parte, persisten los factores atribuibles al humano que propician la resistencia antifúngica como son: venta de antifúngicos de cualquier tipo sin necesidad de presentar receta médica, tratamientos incompletos, dosificación menor al indicado, uso exagerado de antifúngicos sin diagnóstico preciso y la carencia de reglamentación en cuanto a la venta de antimicóticos. Por lo anterior, este trabajo aportará información valiosa para determinar la frecuencia actual de resistencia antifúngica en hongos causantes de onicomycosis (dermatofitos, levaduras y mohos) así como los posibles factores asociados.

### **III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La resistencia antifúngica es un fenómeno que va en aumento, que, asociado a la estrecha gama de antifúngicos disponibles, lo convierte en una situación con impacto clínico y económico. Estudios en centros de tercer nivel de hace 10 años demuestran una prevalencia de resistencia del 19-30% en onicomicosis, cifra que se calcula está aumentando.

Las medidas de prevención para la disminución de este fenómeno son escasas debido a la poca información disponible acerca de los factores asociados. El factor más descrito para resistencia antifúngica es la exposición previa a antimicóticos [7]

La onicomicosis por otra parte es una infección de alta prevalencia y con altos índices de falla terapéutica.

En la actualidad no hay estudios realizados en población mexicana en donde se evalué la frecuencia actual de resistencia antifúngica y los posibles factores clínicos y epidemiológicos asociados

#### **IV. JUSTIFICACIÓN**

La determinación de la frecuencia de resistencia antimicótica y los factores asociados a resistencia antifúngica permitirá obtener información valiosa para implementar medidas que ayuden a modificar la tendencia de este fenómeno. Debido a su alta frecuencia y gran variedad de agentes causales, la onicomycosis puede ser un modelo de estudio para analizar la evolución de las resistencias en los hongos y determinar posibles factores asociados.

De forma específica, la información que se obtenga permitirá tener un mejor abordaje diagnóstico y terapéutico de los pacientes portadores de onicomycosis, por una parte, vislumbrando la necesidad de estudios de resistencia antifúngica en casos de falla terapéutica y la necesidad de ampliar los medicamentos disponibles para el manejo de esta patología.

## **V. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿Cuál es la prevalencia de resistencia antifúngica en aislados de pacientes con onicomicosis en un hospital de alta especialidad?

¿Existe asociación entre la frecuencia de resistencia antifúngica con la exposición previa de antimicóticos, tiempo de evolución de la onicomicosis, inmunosupresión y forma clínica de la onicomicosis?

## **VI. HIPÓTESIS**

- La prevalencia de resistencia antifúngica de aislados micóticos de pacientes con onicomicosis de paciente del Hospital de Especialidades de CMN siglo XXI tendrán una frecuencia mayor (30%) respecto al reportado en estudios previos (20%)
- Uno o varios factores, como son la exposición previa antimicóticos, inmunosupresión, variedad clínica y tiempo de evolución incidirán en la frecuencia de resistencia antifúngica.



## **VII. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la prevalencia de resistencia antifúngica en onicomicosis de pacientes del Hospital de especialidades de CMN siglo XXI y determinar los factores asociados a resistencia antifúngica en onicomicosis

## **VIII. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

1) Determinar el género y especie de los agentes de onicomicosis mediante técnicas microbiológicas (morfología y fisiología)

2) Determinar la frecuencia de resistencia de los aislados fúngicos frente a los siguientes antimicóticos: itraconazol, fluconazol, voriconazol, terbinafina, pozaconazol, caspofungina, anfotericina B y agentes de uso tópico como la ciclopiroxolamina, utilizando el método de microdilución en placa.

3) Comparar los porcentajes de resistencia antifúngica ajustados por las variables de comorbilidad, tiempo de evolución de la dermatosis, variedad clínica y tratamiento antifúngico previo.

## **IX. PACIENTES, MATERIAL Y MÉTODOS**

### **a) Diseño del estudio**

Estudio observacional, prolectivo, transversal y analítico.

### **b). - Población objetivo**

La población de estudio fueron los pacientes con sospecha de onicomycosis atendidos en el Laboratorio de Micología Médica del Hospital de Especialidades durante los 12 meses siguientes a la aprobación de este estudio. Los pacientes con sospecha de onicomycosis fueron enviados principalmente de la consulta externa del servicio de Dermatología del Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI y también fueron reclutados pacientes del área de hospitalización.

### **c) Descripción de variables**

#### **Variables dependientes:**

- **Resistencia antifúngica:**

**Definición conceptual:** Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) que excede los límites de sensibilidad dado para una cepa fúngica.

**Definición operacional:** Se definió como el valor de MIC que superó el valor esperado para una cepa definida medida a través de la técnica de microdilución en placa. La técnica de microdilución en placa da valores cuantitativos en microgramos/mL, no obstante, para finalidad del análisis convirtió en dicotómica para análisis bivariado

**Tipo de variable:** Cuantitativa, pero para análisis se transformó en cualitativa dicotómica.

**Escala de mediciones:** Microgramos/mL y Ausente=1 Presente=2

**Variables independientes:**

- **Inmunosupresión:**

**Definición conceptual:** Situación o característica de los pacientes que los hace más susceptible a ciertas condiciones de predominio infecciosas en comparación con la población general.

**Definición operacional:**

Para el estudio se interrogó por comorbilidades, y se catalogó como inmunosupresión las siguientes condiciones:

Enfermedades reumatológicas (lupus, artritis reumatoide, enfermedades granulomatosas)

Diabetes mellitus

VIH

Uso crónico de esteroides sistémicos (utilizados generalmente para trastornos inflamatorios).

Inmunosupresores ahorradores de esteroides (azatioprina, ácido micofenólico, cloroquina, metotrexato, etc.)

Uso de agentes biológicos inmunosupresores

Alguna otra inmunodeficiencia específica

La recolección de la comorbilidad fue de forma literal, pero se dio una calificación de presente o ausente si cumplió o no con las condiciones ya descritas.

Para el análisis se consideró como dicotómica, ya sea que esté o no presente la inmunosupresión.

**Tipo de variable:** Cualitativa dicotómica

**Escala de medición:** Ausente=1 Presente=2

- **Tiempo de evolución de la onicomicosis:**

**Definición conceptual:** Tiempo transcurrido desde la primera identificación del diagnóstico hasta el momento actual

**Definición operacional:** Tiempo transcurrido desde la primera identificación referida por el paciente (Cambios de coloración y forma de las uñas) hasta el momento de su registro

**Tipo de variable:** Cuantitativa discreta

**Escala de mediciones:** Meses

- **Forma clínica de la onicomicosis:**

**Definición conceptual:** Formas clínicas diferentes en las que se puede presentar una misma enfermedad.

**Definición operacional:** Forma clínica que determinó el médico dermatólogo al realizar la exploración física. Las formas clínicas son:

Onicomicosis subungueal distal-lateral: OSD-L

Onicomicosis subungueal proximal: OSP

Onicomicosis blanca superficial: OBS

Onicomicosis distrófica total: ODT

**Tipo de variable:** Nominal

**Escala de mediciones:** OSD-L=1, OSP=2, OBS=3 y ODT=4

- **Tratamiento o exposición previos a antifúngicos**

**Definición conceptual:** Tratamientos farmacológicos usado con anterioridad por el paciente durante la evolución de la enfermedad

**Definición operacional:** Se designó como presente cuando el paciente recibió manejo antifúngico sistémico de forma terapéutico o profiláctico, tópico en forma de laca o cremas durante el periodo de evolución de la onicomycosis

**Tipo de variable:** Cualitativa dicotómica

**Escala de medición:** Ausente=1 Presente=2

- **Agente causal de onicomycosis:**

**Definición conceptual:** En enfermedades infecciosas, es el microorganismo, asociado con una infección específica.

**Definición operacional:** Especie de hongo que se obtuvo en el cultivo

**Tipo de variable:** Nominal

**Escala de mediciones:** Dermatofitos=1, Levaduras=2 y Hongos filamentosos no dermatofitos=3

Por otra parte, en los aislados levaduriformes, se dividieron debido a que están dominadas por el género *Candida* y éstas a su vez por las especies *C. albicans* y *C. parapsilosis*. Otros géneros de relevancia son *Rhodotorula* y *Trichosporon* los cuales podrían analizarse en un grupo adicional.

- **Examen directo:**

**Definición conceptual:** En estudio micológico, estructuras micóticas observadas mediante microscopia en muestra embebida en KOH

**Definición operacional:** Estuvo determinado por el investigador principal y el químico encargado del laboratorio de micología. Como resultados probables están filamentos, estructuras levaduriformes o negativo.

**Tipo de variable:** Nominal

**Escala de mediciones:** Filamentos =1 y Levaduras =2 Negativo= 3

- **Sexo**

**Definición conceptual:** Taxón que agrupa a especies que comparten ciertos caracteres

**Definición operacional:** Sexo consignado en la hoja de registros

**Tipo de variable:** Cualitativa dicotómica

**Escala de mediciones:** Mujer=1 y Hombre=2

- **Edad**

**Definición conceptual:** Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento actual.

**Definición operacional:** Tiempo Transcurrido desde el nacimiento hasta el registro del paciente.

**Tipo de variable:** Cuantitativa discreta

**Escala de mediciones:** Años

#### **d) Reclutamiento de pacientes**

En el reclutamiento participó el Servicio de Consulta Externa de Dermatología, de donde se enviaron pacientes para estudio micológico al identificar los probables casos de onicomicosis (cambios en la coloración o en la forma de la uña) que es parte del protocolo diagnóstico realizado en la práctica clínica diaria. Se informaba al médico que funge como parte de los investigadores ante la sospecha de un probable caso de onicomicosis y él se encargaba de obtener el consentimiento para el uso del material biológico en pruebas de resistencia. Además, posterior a obtener el consentimiento informado para participar en el estudio, se procedió a realizar un interrogatorio para el llenado de la hoja de datos del paciente. (ver hoja de recolección de datos en anexos).

A los pacientes que fueron enviados al laboratorio de micología se realizaron los procedimientos correspondientes a la toma de muestra, examen directo y cultivos (ver procedimientos).

De los pacientes con cultivos positivos se realizó el concentrado de los datos epidemiológicos como: edad, género, antimicóticos orales administrados y tiempo de administración, enfermedades concomitantes, medicamentos inmunosupresores administrados. La figura 1 muestra el flujograma de reclutamiento de pacientes.

#### **e). Criterios de inclusión**

Pacientes mayores de 18 años de cualquier sexo

Pacientes con cultivo positivo para especies productoras de onicomicosis: dermatofitos, levaduras y hongos filamentosos no dermatofitos

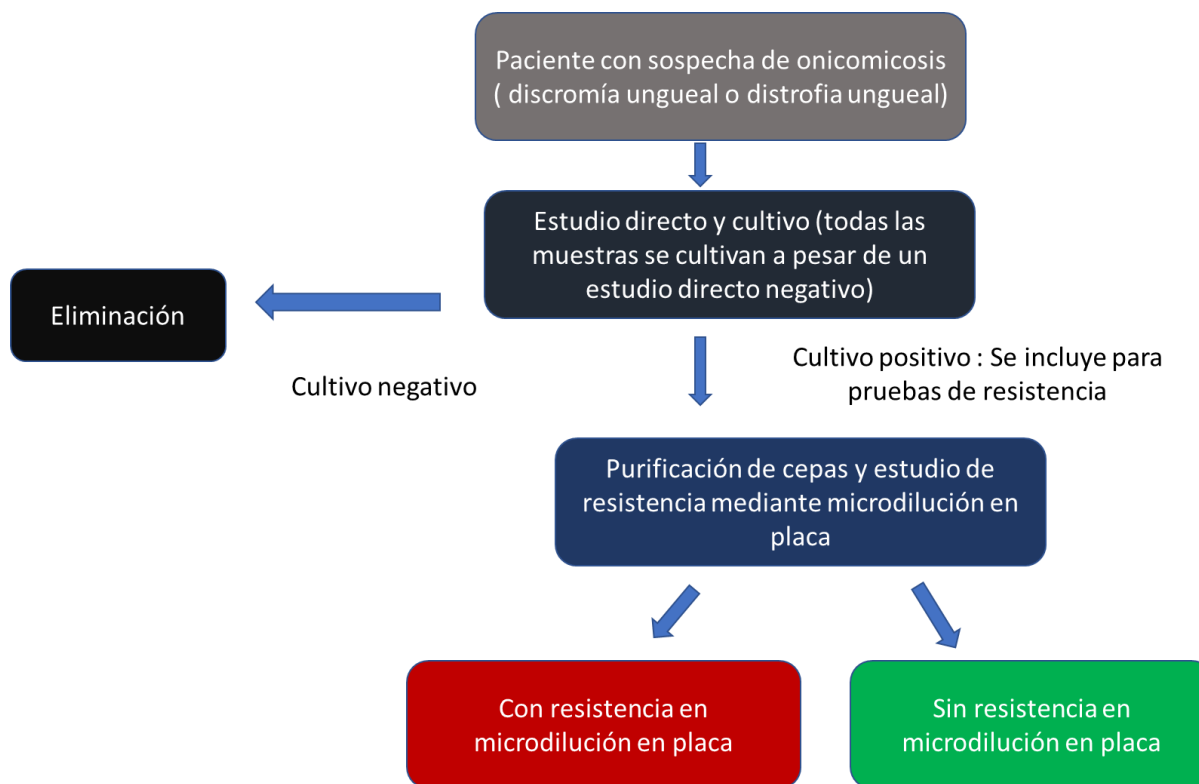
### f). Criterios de exclusión

Se excluyeron aquellos pacientes que por cualquier motivo no contaron con los datos clínicos o epidemiológicos completos

Cultivos de pacientes con desarrollo de hongos contaminantes o aquellos cultivos que no fue posible purificarlos.

Pacientes que no firmaron el consentimiento informado

**Figura 1. Flujograma de reclutamiento de pacientes**





### **g) Cálculo del tamaño de muestra**

Se calculó el tamaño de muestra utilizando el programa GPower versión 3.1 con fórmula de diferencia de proporciones a una cola, con el estadístico de ji cuadrado exacto de Fisher para un estudio transversal. Considerando un nivel de confianza del 95%, un poder del 80%, a la proporción 2 se asignó un valor de 0.60, que representa la frecuencia esperada de resistencia antifúngica en la población de estudio, y a la proporción 1 de 0.20 (correspondiente a la frecuencia de resistencia antifúngica conocida al momento), dando como resultado un valor de 36, que corresponden al número mínimo de pacientes con un cultivo positivos que se requieren reclutar, repartido en 18 sujetos de estudio por grupo.

Por otra parte, al tomar en cuenta las variables independientes de importancia para el estudio como son la exposición previa a antimicóticos, la variedad clínica y la presencia de inmunosupresión, el cálculo de tamaño de muestra no se modifica debido a que los valores utilizados son los mismos que se tomaron para calcular la frecuencia de resistencia antifúngica (en este caso 0.20 para los pacientes sin el factor y 0.6 para los pacientes con el factor). Si tomamos en cuenta la regla de los pulgares para las variables de estudio de importancia, requerimos un total de 40 pacientes.

Finalmente, concluimos que una muestra de 40 pacientes portadores de onicomicosis con un cultivo positivo es suficiente para obtener resultados estadísticamente significativos.

## **X. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Se realizó una descripción de las características generales de la población con el cálculo de medidas de tendencia central y medidas de dispersión para variables cuantitativas, frecuencias y porcentajes para variables cualitativas. Para el contraste de hipótesis de las variables cualitativas dicotómicas del estudio (exposición previa de antimicóticos, forma clínica de onicomycosis, comorbilidad) se utilizaron tablas de contingencia de 2x2 con las pruebas de estadística de Ji cuadrada exacta de Fisher por el tamaño de muestra y la cantidad de casos esperado por celda. Por otra parte, la otra variable de importancia para el estudio era el tiempo de evolución de la onicomycosis, la cual es una variable cuantitativa, debido a que tuvo una distribución no normal se utilizó la mediana como medida de tendencia central y la U de Mann-Whitney como prueba estadística. Debido al tamaño de muestra, no se consideró prudente realizar un análisis multivariado con regresión logística. Para llevar a cabo el análisis estadístico se utilizó el programa estadístico IBM SPSS Statistics 23

## XI. RESULTADOS

Se estudió un total de 43 paciente con el diagnóstico de onicomicosis confirmado mediante cultivo, la media de edad fue de 53 SD  $\pm$ 16 años. La distribución de sexo fue de 29 mujeres (67.4%) y 14 hombres,32.6%, (tabla 1), la media de duración en meses de la onicomicosis fue de 81 SD $\pm$  64 meses, se calculó de igual forma la mediana que fue 60 meses y RIQ de 0. La forma clínica más frecuente fue la distrófica total con 29 casos, 67.4% y subungueal distal con 14 casos, 32.6%, no se presentó ningún caso de blanca superficial, (tabla 2).

Tabla 1 Distribución por sexo

	Frecuencia	Porcentaje
Mujer	29	67.4
Hombre	14	32.6

Tabla 2. Formas clínicas de onicomicosis

	Frecuencia	Porcentaje
Subungueal distal	14	32.6
Distrófica total	29	67.4

Por otra parte, se catalogaron 23 (53.5%) pacientes como sanos y 20 (46.5%) de los pacientes como inmunosuprimidos, dentro de las patologías interrogadas fueron enfermedad renal crónica (3), lupus eritematosos sistémico (5), trasplantados renales (3), artritis reumatoide (3), VIH (1) diabetes mellitus (2), vasculitis y otros (3). Tabla 3

Tabla 3. Estado de inmunidad de los pacientes

	Frecuencia	Porcentaje
Inmunocompetente	23	53.5
Inmunosuprimido	20	46.5

En relación con el procesamiento de las muestras, durante el examen directo con KOH al 10%, 26 mostraron estructuras filamentosas, 7 estructuras levaduriformes y 10 arrojaron un resultado negativo. Tabla 4

Tabla 4. Examen directo de escama

	Frecuencia	Porcentaje
Filamentos	26	60.5
Levaduras	7	16.3
Negativo	10	23.3

El antecedente de exposición para agentes antimicóticos fue positivo para 20 pacientes (46.5%) y negativo para 23 pacientes (53.5%). Tabla 5

Tabla 5. Tratamiento antifúngico previo

	Frecuencia	Porcentaje
Sin tratamiento	23	53.5
Tratamiento Previo	20	46.5

Los 43 aislados patógenos obtenidos en cultivos de pacientes con onicomicosis fueron únicamente especies levaduriformes, a pesar de que en un inicio se planteó estudiar también especies filamentosas, esto debido a contaminación de los cultivos filamentosos por ácaros inutilizando los cultivos de esas especies. Debido a que las especies levaduriformes eran suficientes para completar el tamaño de muestra requerido fue por lo que se decidió continuar con las pruebas de sensibilidad.

Se identificó un predominio de especies del género de *Candida* con un total de 34 aislados, 3 del género *Rhodotorula* (7%) y 6 del género *Trichosporon* (14%). Se realizó identificación de especies del género *Candida* mediante medio especial de CHROMagar® y mediante sistema VITEK® siendo las especies más frecuentes *C. albicans* 16 (37.2%) y *C. parapsilosis* con 16 (37.2%), teniendo solo un aislado para *C. galli* (2.3%) y otro para *C. guilliermondii* (2.3%) (tabla 6).

Tabla 6. Cultivos de agentes patógenos de onicomicosis

	Frecuencia	Porcentaje
<i>C. albicans</i>	16	37.2
<i>C. parapsilosis</i>	16	37.2
<i>C. galli</i>	1	2.3
<i>C. guilliermondii</i>	1	2.3
<i>Trichosporon sp</i>	6	14.0
<i>Rhodotorula sp</i>	3	7.0
<i>Total</i>	43	100.0

La resistencia global de las 43 muestras sometidas a pruebas de sensibilidad fue del 58.1%, esto significa que 25 aislados de las 43 tuvieron resistencia por lo menos a uno de los antifúngicos, de los 7 antifúngicos utilizados, por otra parte, 18 de los 43 aislados mostraron una sensibilidad frente a los 7 antifúngicos probados. (Tabla 7)

**Tabla 7. Resistencia antifungica global**

	Frecuencia	Porcentaje
Sensible	18	41.9
Resistente	25	58.1
Total	43	100.0

Por otra parte, se midió la frecuencia de aislados multirresistentes que se definió como aquellos aislados resistentes a 2 o más fármacos antifúngicos, resultando un número de 15 aislados (34.9%). De los estudios de sensibilidad realizados para otros antifúngicos de uso para levaduras, pero no para onicomicosis, como es el caso de anfotericina y caspofungina, se obtuvo un total de 1 (3%) y 9 (20%) cepas resistentes, respectivamente. En relación con caspofungina, 6 de las cepas que resultaron resistentes correspondieron a *Trichosporon*, género de levaduras que muestra una resistencia innata a caspofungina.

El porcentaje de resistencia antifúngica agrupada por antimicótico fue la siguiente:

Itraconazol: 13 (30.2%); fluconazol: 9 (20.9%); caspofungina: 9 (20.9%); anfotericina: 1 (2.3%); voriconazol: 17 (39.5%); posaconazol: 14 (32.6%). La tabla 8 muestra el número de aislados resistentes a los diferentes grupos de fármacos.

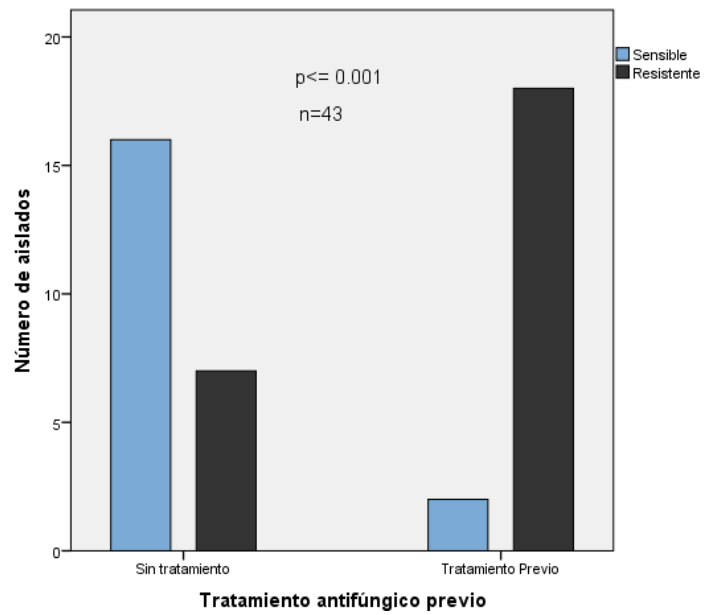
Tabla 8. Resistencia antifúngica por especie de levadura y antifúngico

	Itraconazol	Voriconazol	Fluconazol	Posaconazol	Caspofungina	Anfotericina	Ciclopiroxolamina	Total
<i>C. albicans</i> (n=16)	11	10	9	9	1	0	0	
<i>C. parapsilosis</i> (n=16)	1	1	0	0	0	1	0	
<i>C. gali</i> (n=1)	0	0	0	0	0	0	0	
<i>C. guilliermondi</i> (n=1)	0	1	0	0	1	0	0	
<i>Trichosporon sp</i> (n=6)	0	4	0	3	6	0	0	
<i>Rhodotorula sp</i> (n=3)	1	0	0	2	1	0	0	
<b>Total</b>	<b>13 (30.2%)</b>	<b>17(39.5) %</b>	<b>9 (20.9%)</b>	<b>14 (32.6%)</b>	<b>9 (20.9%)</b>	<b>1 (2.3%)</b>	<b>0</b>	<b>25(58.1%)</b>

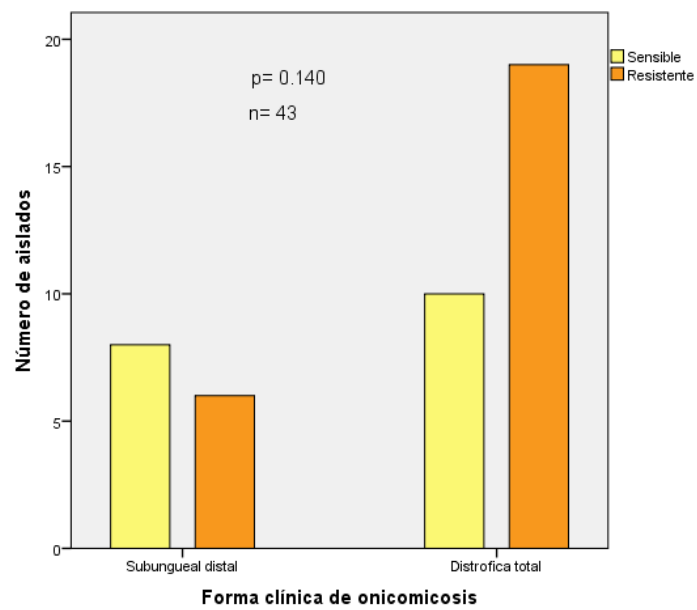
Se realizó análisis bivariado de la variable dependiente de respuesta principal que fue la resistencia antifúngica y las características clínicas independientes principales que se plantearon que fue la evolución de la onicomycosis, la exposición previa a antimicóticos, la presencia de comorbilidad que propicia inmunosupresión y la forma clínica de la onicomycosis. Graficas de 1-3.

De acuerdo con el análisis bivariado realizado, solo el antecedente de tratamiento antifúngico previo fue el factor asociado con mayor frecuencia de resistencia antifúngica con una  $p < 0.001$  y un OR de 6.9 IC: 1.8-26. Por otra parte, la forma clínica de onicomycosis ( $p= 0.140$ ), antecedente de inmunosupresión ( $p= 0.242$ ) y evolución de la enfermedad ( $p=0.575$ ) no fueron estadísticamente significativos.

Gráfica 1. Resistencia antifúngica y tratamiento antifúngico previo

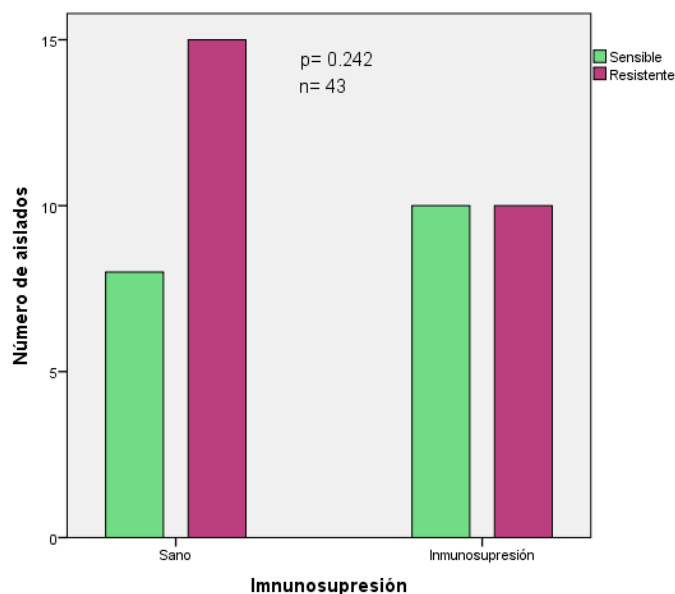


Gráfica 2. Resistencia antifúngica y forma clínica de onicomicosis





Gráfica 3. Resistencia antifúngica e inmunosupresión



Además del análisis bivariado realizado para la variable dicotómica de exposición previa antimicóticos y la variable dicotómica de resistencia antifúngica, también se realizó una descripción y análisis de los niveles de MICs por aislados y por antecedente de exposición antimicóticos.

Los niveles de referencia y las medianas de MICs por aislado y antifúngico, se muestran agrupados en la tabla 9 y 10. Debido a que los aislados de *C. guillermondi* y *C. galli* solo fue uno respectivamente, se presentan los valores de MICs para cada antifúngico. Tabla 11

Mediante el estadístico U de Mann-Witney se comparó las subpoblaciones de aislados para determinar si hubo diferencia significativa en la mediana de MICs. El análisis mostró que los aislados de *C. albicans* tuvieron una mediana mayor para todos los azoles con una *p* significativa < 0.001. La mediana de MICs para caspofungina en el género *Trichosporon* fue también

estadísticamente significativa con respecto al resto de las especies, esto explicado por la resistencia innata ya conocida de este género a ese grupo de fármacos.

Por otra parte, el análisis bivariado tomando en cuenta los MICs y el antecedente de exposición a antifúngicos, también demostró tener una mediana mayor para los casos en donde existía un antecedente de exposición. Esta diferencia resultó significativa para todos los medicamentos del grupo de los azoles. ( $p < 0.001$ )

Tabla 9. Niveles de MICs por aislado

Especie		Rango (MIC)		Mediana
		Sensible ≤	Resistente >	
<i>C. albicans</i> (16)	AMB	1	1	0.25
	FCZ	2	4	4 ( $p < 0.001$ )
	ICZ	0.125	0.5	9 ( $p < 0.001$ )
	VZC	0.125	0.5	15 ( $p < 0.001$ )
	PZC	0.06	0.06	0.25 ( $p < 0.001$ )
	CPF	0.25	0.5	0.5
	CPX	1	1	0.125
<i>C. parapsilosis</i> (16)	AMB	1	1	0.25
	FCZ	2	4	0.125
	ICZ	0.125	0.5	0.03
	VZC	0.125	0.5	0.187
	PZC	0.06	0.06	0.03
	CPF	2	4	1
	CPX	1	1	0.125

Tabla 10. Niveles de MICs por aislado

Especie		Rango (MIC)		Mediana
		Sensible ≤	Resistente >	
<i>Trichosporon sp</i> (6)	AMB	1	1	0.125
	FCZ	2	4	2.25
	ICZ	0.125	0.5	0.15
	VZC	0.125	0.5	0.75
	PZC	0.06	0.06	0.077
	CPF	0.25	0.5	16 (p< 0.001)
	CPX	1	1	0.125
<i>Rhodotorula sp</i> (3)	AMB	1	1	0.125
	FCZ	2	4	1
	ICZ	0.125	0.5	0.5
	VZC	0.125	0.5	0.5
	PZC	0.06	0.06	0.125
	CPF	0.25	0.5	1
	CPX	1	1	0.25

Tabla 11. Niveles de MICs por aislado

Especie	CPF	AMB	CLP	ICZ	PCZ	FCZ	VCZ
<i>C. gali</i>	.500	.500	.125	.030	.030	.2500	.250
<i>C. quillermondi</i>	16.000	1.000	.125	.125	.125	25.0000	2.000

## **XII. DISCUSIÓN**

La onicomicosis es un problema de alta prevalencia, a nivel mundial afecta aproximadamente un porcentaje que va del 2-50%. En Estados Unidos la prevalencia es del 7-14% y en México el 30%. En el ámbito global representa el 50% de la patología ungueal y el 30% de las micosis superficiales [31, 32]

El aumento en la longevidad, inmunosupresión (VIH, diabetes, uso de esteroide, uso de inmunosupresores, quimioterapia), el uso de antibióticos de amplio espectro, trastornos circulatorios en miembros periféricos, alteraciones de la absorción e interacciones medicamentosas, no solo han favorecido que este tipo de infecciones vayan ganando mayor terreno, sino que además son factores que entorpecen la evolución de estas infecciones generando fallas terapéuticas. [2]

A pesar de que la onicomicosis por sí mismo no es un problema grave, es un problema crónico que genera morbilidad y estrés, asociada con los problemas estéticos en los pacientes, gastos en atención médica y exposición a fármacos, y lo más importante, la uña se convierte en un reservorio de gérmenes potencialmente causantes de micosis sistémicas como las candidosis.[33] Lo anterior, aunado a la alta incidencia de falla terapéutica ensombrece el panorama de esta enfermedad. Por tal motivo, recientemente es más común observar estudios enfocados en los factores que implica esta situación, uno de éstos, la resistencia antifúngica.

Nuestro estudio tuvo como objetivo el determinar la prevalencia de resistencia antifúngica en pacientes con onicomicosis en un hospital de alta especialidad, para demostrar la tendencia hacia el aumento de este fenómeno y tratar de determinar los posibles factores clínicos que influyen este fenómeno.

Las características clínicas de nuestros pacientes y presentadas en el apartado de resultados son comparables y han sido también encontradas en estudios previo, sobre todo las características generales de los pacientes. Por ejemplo, *Manzano-Gayosso y cols.* estudiaron la sensibilidad a especies levaduriformes en paciente con onicomycosis en 4 centros de especialidades. Encontró un predominio de afección en el sexo femenino del 70.5%, muy cercano al 67.4 % encontrado en nuestro estudio y acorde a otros reportes internacionales. [34, 35] La edad promedio fue de 51 años con un rango de 41-71 años, en nuestro estudio el promedio fue de 53 SD  $\pm$ 16 años. Por otra parte, en relación a los aislamientos levaduriformes también se observó la tendencia en el aumento de aislamiento de especies de *C. parapsilosis* (31%) y *C. albicans* (22%), en el caso de nuestro estudio cada una tuvo un porcentaje igual del 37% de los aislamientos. Esta tendencia también se observó en el estudio realizado por *Oyarzo y cols.* donde también se estudió la sensibilidad de levaduras en onicomycosis, para este estudio la frecuencia de aislados de *C. parapsilosis* fue de 36.7 contra 26.5 de *C. albicans*. [36] Con respecto a otras especies levaduriformes, otros géneros aislados en ambos estudios fueron *Rhodotorula* con 1 caso (0.6%) y *Trichosporon* 3 (1.8%) para el estudio *Manzano-Gayosso y cols* [24] y en el caso de nuestro estudio fue de 6 (14%) y 3 (7%), respectivamente. Por otra parte, en otro estudio reciente realizado en la India por *Saleh R. y cols.* se estudiaron 68 pacientes portadores de onicomycosis, aislaron 37 levaduras (32.4%) del género *Candida* a las cuales se les midió la sensibilidad a fluconazol, itraconazol y terbinafina mediante el método de difusión en disco en base de agar. [37] En este estudio se encontró que los pacientes tuvieron un rango de edad del 16-65 años, con una afección del sexo femenino del 79.4%. Para las formas clínicas encontraron un 45% de subungueal distal-lateral y 37% de distrófica total, porcentajes que en nuestros pacientes fue invertido y en mucho mayor proporción para los casos de distrófica total, lo que explicamos debido a la mediana de tiempo de evolución de la

onicomicosis en nuestra población de estudio. Otra variable que se estudio fue los resultados de estudios directos con KOH al 10%, en este estudio realizado en la India se manejó de manera dicotómica como positivo y negativo, dando un rendimiento del 77.9%, en nuestro estudio fue del 76.6%. El cálculo de otras medidas como sensibilidad o especificidad de este método diagnóstico (examen directo) no se calculó por diversos motivos, el principal es debido a que no es parte de los objetivos ni primarios ni secundarios del estudio, el otro es que debido a la forma en que se recolecto la muestra y como se seleccionó la muestra no permitiría calcular estas medidas, ya que de forma invariable sesgaría estos valores. Con respecto a los cultivos, en el estudio realizado en la India tuvieron una frecuencia de obtención de cultivos positivos del 80.9%. Por metodología de nuestro estudio, solo trabajamos con cultivos positivos y descartamos las muestras que resultaron en cultivos negativos, no se realizó ningún análisis de esta información

Como se mencionó en el apartado de resultados, la resistencia global encontrada fue de 58.1%, cercana a la planteada en la hipótesis. El estudio realizado por *Manzano-Gayosso y cols* en donde se determinó la sensibilidad de aislados levaduriformes de pacientes de onicomicosis a diferentes azólicos se encontró una resistencia del 30.7%. Estos estudios pueden ser comparables ya que fueron realizados en hospitales de tercer nivel, que implica una población portadora de comorbilidades, por lo que anticipábamos una frecuencia elevada de resistencia a antifúngica. Otro dato a tomar en consideración que influyó en elevar la frecuencia de resistencia en nuestro estudio es la inclusión en el análisis de las cepas de *Trichosporon* que tienen una resistencia innata a caspofungina, que omitiendo estos casos y para hacerlo comparable con el estudio de *Manzano-Gayosso y cols* nos daría una prevalencia de 44.1%

*Saleh R. y cols.* encontraron una resistencia a fluconazol, itraconazol y terbinafina del 26.5, 41.2 y 94.1, respectivamente. La resistencia por medicamento encontrada en este estudio fue más

elevada que el reportado en nuestro estudio ya que la resistencia individual al fluconazol e itraconazol fue de 20.9 y 30.2 respectivamente.

En el estudio de *Oyarzo y cols.* se estudiaron 117 aislados levaduriformes de onicomiosis de manos y pies, se probó la sensibilidad a fluconazol e itraconazol, encontrando una frecuencia de 16.2% y 4% respectivamente.[36] Posiblemente se encontró una resistencia antifúngica baja debido a que predominaron las afecciones en mano, dermatosis que generalmente tiene una evolución subaguda, hay que recordar que el aumento de resistencia antifúngica elevada se ha reportado sobre todo en onicomiosis podal, que es en su gran mayoría son de evolución crónica.

La exposición a antimicóticos y el cambio en las características de los pacientes ha generado que se observen cambios de especies de levaduras que producen una misma enfermedad. Se desconoce el mecanismo exacto mediante el cual se explique esta tendencia, pero hay diversos estudios que han tratado de describir y explicar este fenómeno. Por ejemplo, hay una tendencia específica en el cambio de especie de levaduras productora de onicomiosis podal, inclinada hacia especie de *C. parapsilosis* y desplazando a *C. albicans*, [34, 35] algo que aún no se explica totalmente.

Es de relevancia mencionar que ninguno de los estudios mencionados o realizados al momento en donde se ha estudiado la resistencia antifúngica en onicomiosis se ha buscado el antecedente de exposición a antimicóticos como un factor asociado.

*Evans E*, analizó un estudio de pacientes que recibían manejo intermitente con azoles para el manejo de onicomiosis, para determinar si la exposición intermitente a antifúngicos favorecía el aumento de cepas resistente de aislados de mucosa oral. Se estudiaron un total de 108 pacientes y se probó la sensibilidad a itraconazol y fluconazol. El estudio no mostró cambio en el perfil de

especies que colonizaban la mucosa oral durante el tiempo de tratamiento ni tampoco un aumento en la frecuencia de aislados resistentes en estos pacientes, concluyendo que a nivel de la mucosa oral la exposición previa y de forma intermitente no aumentaba la frecuencia de resistencia antifúngica en los aislados. [38]

El uso de fluconazol de forma profiláctica ha permitido observar el cambio de especies productoras de candidemia en paciente inmunosuprimidos hacia especies con resistencias innata hacia azoles como *C. glabrata* y *C. krusei*[39, 40]

Estos estudios podrían explicar que el cambio transitorio de la biota hace que predominen especies resistentes a azoles y que, por lo tanto, aumente su frecuencia de aislamiento, pero no explica en este caso el aumento de especies de *C. parapsilosis* en la onicomycosis, ya que esta no es una especie con resistencia innata a azoles y que además en los diversos estudios realizados, ésta no es la especie que mayor resistencia aporta a las casuísticas.

La exposición previa a antimicóticos en el contexto de la onicomycosis se ha estudiado previamente por Gupta y colaboradores en paciente con antecedente de falla terapéutica.[41] El estudio consistió en una cohorte retrospectiva que incluyó a 18 paciente portadores de onicomycosis a los cuales se buscó el antecedente de falla terapéutica y por ende la exposición a antifúngicos. Este trabajo se enfocó en especies filamentosas (dermatofitos) y su sensibilidad a itraconazol, terbinafina, ketoconazol y ciclopirox. El estudio no demostró resultados significativos en el antecedente de la falla terapéutica con el aumento de la resistencia antifúngica medida *in vitro* y concluye que existen otros factores además de la resistencia antifúngica que influyen en la falla terapéutica.



Aunque el estudio anterior tiene una metodología adecuada, no podríamos traducir los resultados a nuestro estudio, debido a que las especies productoras de onicomicosis son diferentes.

Como habíamos mencionado previamente, es indiscutible que en el contexto de falla terapéutica sean múltiples los factores que influyen, algunos prevenibles y otros de comportamiento independiente e inherente al paciente. El estudio tenía la finalidad de demostrar que la resistencia antifúngica es un problema vigente que tiene una tendencia al alza, y que, aunque no es el único factor asociado a falla terapéutica, si es un factor que puede tener implicación con la exposición previa a antimicóticos, como sucede con los antibióticos.

Por lo anterior, nuestro estudio demuestra que en el contexto de onicomicosis debe evitarse la exposición inadecuada (dosis insuficiente, tiempo de tratamiento insuficiente) para evitar el aumento de este fenómeno. Actualmente, en México se requiere receta médica para adquirir antibacterianos,[42] contrario a sus contrapartes antifúngicas. Nuestro estudio ofrece, entre otros, la evidencia necesaria para evitar el uso inadecuado de estos antimicrobianos a la par de cómo se realizó con los antibióticos.

Como se había mencionado, en Reino Unido, existe regulación sobre la compra de antifúngicos, por lo que el único antifúngica vía oral disponible, es fluconazol en monodosis. El desarrollo de resistencia antimicótica con la exposición previa de antimicóticos tópicos no ha sido demostrado, por lo que podría considerarse continuar con su venta libre debido a que las tiñas superficiales tienen alta prevalencia y generalmente tienen buena respuesta a manejo tópicos.

Es deseable que se realicen estudios con la mayor evidencia posible, no obstante, el estudio transversal era adaptable para responder a los objetivos planteados en nuestro estudio, de forma ideal para el estudio de las enfermedad crónicas y frecuentes, es realizar estudios de cohorte, para

el caso de la resistencia antifúngica en onicomycosis consistiría en iniciar el seguimiento al momento del diagnóstico y antes de la exposición al antimicótico, continuar el seguimiento y aquellos que presentaran falla terapéutica, seleccionarlos y medir la sensibilidad del cultivo al inicio y posterior a recibir el tratamiento. Lo anterior ya fue realizado por Gupta y cols. pero en especies filamentosas, por lo que sería interesante su adaptación a levaduras. Por otra parte, un estudio como el anterior implica mayor gasto de recursos y tiempo, que a veces no es adaptable.

El estudio de los mecanismos de resistencia antifúngicas y los genes relacionados, es otro dato interesante que podría ser estudiado en aislados levaduriformes de pacientes con onicomycosis y conocer la relación clínica, *in vitro* y molecular existente dentro de este fenómeno. Así, como primer paso, sería identificar la presencia del gen de resistencia en los aislados y además medir la expresión de éstos. Lo anterior, adaptado a un estudio de cohorte, podría secuenciar el proceso de resistencia secundaria inducida en levaduras en un modelo vivo.

### **XIII. CONCLUSIONES**

1.- La onicomycosis por levaduras es una enfermedad que predomina en población adulta y en el sexo femenino

2.-La onicomycosis por levaduras está producida predominantemente por el género *Candida* y ésta a su vez por las especies *C. parapsilosis* y *C. albicans*, otros géneros reportados en muchos menos proporción son *Trichosporon* spp. y *Rhodotorula* spp.

3.-La prevalencia de resistencia antifúngica en especies levaduriformes en pacientes con onicomycosis del hospital de especialidad de CMN Siglo XXI fue del 58.1%, muy alta respecto a estudios previos.

4.-El antecedente de exposición previa a antimicóticas en los pacientes demostró ser un factor asociado al aumento en la frecuencia de resistencia antifúngica en los aislados micóticos.

5.-Las características del paciente, la forma clínica de onicomycosis, inmunosupresión y tiempo de evolución de la onicomycosis no se asociaron con aumento en la frecuencia en la resistencia en los aislados micóticos.

#### **XIV.- CONSIDERACIONES ÉTICAS**

El presente estudio se rige bajo los principios éticos de la declaración de Helsinki de beneficencia, no maleficencia, justicia y autonomía. De acuerdo con el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud en su artículo 17, la presente investigación se considera con riesgo mínimo para los participantes.

Es importante delimitar la práctica clínica de la actividad propiamente de investigación. Dentro del Servicio de Dermatología del Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI, la onicomycosis es una dermatosis que se sospecha mediante la exploración física al observar cambios de coloración y forma de la uña. Como parte del protocolo diagnóstico se envía a realizar estudios microbiológicos de escama de uñas, que consisten en examen directo y cultivo. Hasta ese punto queda limitado la atención médica. Por otra parte, a lo que respecta a los estudios de resistencia antifúngica comprometen propiamente a los objetivos del presente estudio, por tal motivo el consentimiento informado va dirigido a obtener la autorización del manejo de las muestras con esos fines.

Los tratamientos disponibles para el manejo de la onicomycosis en nuestra institución se limitan a azólicos. Por lo tanto, en caso de obtener cepas resistentes a los antimicóticos disponibles en el cuadro básico se informará directamente al médico tratante para que se implementen estrategias para brindar el mejor tratamiento.

## **XV.- CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD**

El siguiente estudio se rige bajo los lineamientos del Manual de Procedimientos Para el Manejo y Control de Residuos Biológico-Infeciosos Toxico-Peligrosos en Unidades de Atención Médica y de su marco jurídico correspondiente.

De forma particular se hace referencia a los siguientes aspectos:

### 1.- Residuos de cultivos y cepas de agentes infecciosos

- a) Se aplicará el procedimiento correspondiente de análisis de muestra conforme al manual de procedimientos de laboratorio clínico.
- b) Se colocará el material con residuos biológicos-infecciosos en el lugar previamente asignado en el laboratorio
- c) Se trasladará el material a esterilizar y se depositará en el interior de la autoclave de acuerdo con el “Manual Interno de procedimiento de laboratorio” y se depositaran los guantes utilizados en el contenedor para residuos de manejo especial.
- d) El realizará el tratamiento de esterilización por autoclave y de sus actividades subsecuentes conforme al manual de laboratorio clínico de esterilización para cultivos y cepas

### 2.- Material desechable y material para reúso en el servicio:

- a) Enjuague del material y deposito en el contenedor correspondientes
- b) Realizar técnica de lavado del material conforme al procedimiento interno de laboratorio

### 3.- Tratamiento de esterilización por autoclave:

- a) Se aplicará el procedimiento conforme al manual de laboratorio clínico de esterilización para cultivos y cepas mediante autoclave e inactiva materiales con residuos de sangre, a través de este tratamiento o mediante hipoclorito de sodio al 6%

- b) Se realizará el proceso de esterilización de acuerdo con las normas establecidas en el “Manual interno de procedimientos de laboratorio”
- c) Se solicitará al personal de intendencia retire el material esterilizado concluido el procedimiento
- d) Separación del material de acuerdo con sus características: desechables y para reuso en el servicio

#### 4.- Tratamiento con hipoclorito de sodio para material con residuo de sangre y cultivos microbianos

- Se utilizarán cubrebocas y guantes como medida de protección
- Se agregará en el contenedor la solución de hipoclorito de sodio al 6%, 10 ml por cada 100 ml de solución a inactivas
- Se colocará el material en la solución de hipoclorito de sodio y se dejará durante 60 minutos

#### 5.- Material para reuso del servicio:

- a) Se realizará la técnica de lavado de material conforma al procedimiento interno de laboratorio y se colocará el material limpio en el sitio respectivo

De forma específica para el manejo de material biológico (escama de uñas) nos basamos en el manual “Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories” en su quinta edición, sección VIII-B Agentes fúngicos en su apartado de Dermatofitos pagina 176-177.

Aunque las infecciones de piel uñas y pelo por dermatofitos son de las infecciones humanas más prevalente, el procesamiento de material clínico aún no ha sido asociado a infección en laboratorios. Las infecciones reportadas han sido adquiridas de animales infectados de forma natural o experimental y a través del manejo de cultivos. Las formas crónicas aparecen en pacientes

inmunocomprometidos, adultos mayores y diabéticos, por lo que los pacientes susceptibles deben tener precaución extra.

Los dermatofitos poseen un potencial moderado de riesgo para los pacientes con inmunidad normal. En el laboratorio clínico, el manejo inapropiado de cultivos es la fuente más común de infección en el personal de laboratorio. El procedimiento de laboratorio más común para detectar infección por dermatofitos es la microscopia directa de la piel, pelo y uñas, seguida del aislamiento e identificación en medios de cultivo especiales. Otras formas de adquisición, es mediante contacto directo con piel, pelo o uñas contaminadas de otro ser humano. Los cultivos se manejarán en campana de flujo laminar de bioseguridad 2 con lo que se espera evitar tanto la contaminación del cultivo como una remota posibilidad de contaminación ambiental.

## XVI.- CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero	Marzo	Abril	Mayo	Junio
	2018		2019					
Reclutamiento de pacientes y toma de muestras			xxx	xxx	xxx	xxx	Xxx	xxx
Aislamiento y purificación de cultivos			xxx	xxx	xxx	xxx	Xxx	xxx
Detección de resistencia <i>in vitro</i>					xxx	xxx		

Actividades	Julio	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero
	2019						2020
Reclutamiento de pacientes y obtención de muestra	xxx	xxx	xxx	xxx			
Aislamiento y purificación de cultivos	xxx	xxx	xxx	xxx	xxx		
Detección de resistencia <i>in vitro</i>			xxx	xxx	xxx	xxx	
Análisis de Resultado, Conclusiones y redacción de documento escrito para titulación y publicación						xxx	xxx



## **XVII.- INSTITUCIONES PARTICIPANTES Y ACTIVIDADES A REALIZAR EN CADA CENTRO**

Reclutamiento de pacientes y obtención de muestras

Aislamiento y purificación de cultivos

Detección de sensibilidad *In Vitro*

Análisis de Resultado, Conclusiones y redacción de documento escrito

A). Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS

A.1. Servicio de Dermatología y Micología Médica. Captación y registro de pacientes por el Dr. García

A.2. Laboratorio de Investigación Médica en Dermatología y Micología.

- Examen directo de muestras de escamas de uñas, cultivo e identificación fisiológica de aislados.
- Cultivos Monospóricos para realizar los estudios de sensibilidad

Estas actividades se realizaron por los Dres. García Pérez y Méndez Tovar.

- Análisis estadístico de resultados. Realizados por los Dres. García Pérez y Méndez Tovar

B). Unidad de Micología, Facultad de Medicina de la UNAM

- Estudios de sensibilidad antifúngica. Fueron realizados por el Dr. García Pérez bajo la supervisión de la M. en C. Patricia Manzano Gayosso. Proyecto FM/DI/No. 018/SR//2019

## **XVIII.- RECURSOS FINANCIEROS**

Este proyecto será sometido a todas las convocatorias posibles para obtener recursos financieros para la compra de las cepas control, medios de cultivo, material de laboratorio consumible, desechable y los reactivos necesarios para las identificaciones microbiológicas.

También se considerará la compra de material necesario para la realización de las pruebas moleculares y los estudios de sensibilidad en placa por el método de microdilución, sin embargo, mientras no se obtenga ninguna subvención económica los proyectos se iniciarán con el material existente en los laboratorios de las instituciones participantes como se ha acordado.

### **Desglose financiero**

Es desglose financiero para la rea

#### **A) Estudios microbiológicos**

- Agar Dextrosa Sabouraud simple 1 frasco..... 2500 pesos mexicanos
- Agar Dextrosa Sabouraud con antibiótico 1 frasco..... 3500 pesos mexicanos
- Cajas de Petri 1000 cajas desechables..... 1000 pesos mexicanos
- Colorantes y reactivos para aclarado de escama..... 1000 pesos mexicanos

#### **B) Estudio de sensibilidad antifúngica, bloque de**

36 aislados..... 1500 pesos mexicanos

Consideramos se realizarán 40 estudios

con un costo total de..... 6250 pesos mexicanos

## XIX.- ANEXOS

### CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN PROYECTOS DE INVESTIGACIÓN



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD DE EDUCACION, INVESTIGACION  
Y POLITICAS DE SALID  
COORDINACION DE INVESTIGACIÓN EN SALUD



#### CARTA DE CONSENTIMIENTO (ADULTOS)

Lo (a) estamos invitando a participar en el estudio de investigación con el **Nombre: ESTADO ACTUAL DE LA RESISTENCIA ANTIFÚNGICA EN AISLADOS DE PACIENTES CON ONICOMICOSIS EN UN HOSPITAL DE ALTA ESPECIALIDAD**, el cual se llevará a cabo en el Servicio de Dermatología y Micología Médica del Hospital de Especialidades en el Centro Médico Nacional Siglo XXI en colaboración con la Unidad de Micología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México.

**Lugar y Fecha:** \_\_\_\_\_

**Número de registro:**

**Objetivo y justificación:** El objetivo del presente estudio es medir la frecuencia actual de la resistencia a medicamentos que se usan para tratar los hongos de las uñas, el cual es un problema en aumento y que afecta la eficacia de los tratamientos en los pacientes que padecen esta infección.

**Procedimiento:** Si usted acepta participar, autoriza el uso de las muestras de escama para estudios más especializados, el cual incluye estudios para saber si el hongo es resistente algún medicamento. Al aceptar su participación, usted también acepta que se obtengan datos personales y acerca de su padecimiento, lo cual será obtenido mediante un cuestionario con duración

aproximada de 10 minutos. En caso excepcional y cuando un dato sea omitido realizaremos una llamada telefónica con duración no mayor de 5 minutos para recabar dicha información.

**Posibles riesgos y molestias:** Los riesgos de la investigación son nulos, debido a que se utilizarán las mismas muestras ya obtenidas para el diagnóstico de la infección de hongos en las uñas. Las posibles molestias pueden ir relacionadas al consumo de tiempo que implica la realización de la entrevista para el llenado de la hoja de datos y en caso excepcional mediante una llamada telefónica.

**Posibles beneficios que recibirá de participar en el estudio:** Los beneficios de participar en el estudio es determinar si el hongo que está provocando la infección de las uñas es resistente algún medicamento utilizado para el tratamiento de los hongos, lo anterior permitiría buscar otras posibilidades de tratamiento y, por lo tanto, que la infección de sus uñas pueda resolverse.

**Información sobre resultados y alternativas de tratamiento:** Los resultados de resistencia antifúngica de su muestra serán comunicados a su médico tratante. La opción de tratamiento a elegir después de tener los resultados de resistencia algún medicamento será decisión de su médico tratante.

**Participación o retiro:** Es importante que sepa que no recibirá un pago por su participación y que el estudio no implica gasto alguno para usted, de la misma manera, es importante que sepa que conserva el derecho de solicitar que su muestra no sea utilizada para los fines con los que está contemplada en este estudio.

**Privacidad y confidencialidad:** La información que nos proporcione para identificarlo(a) (nombre, teléfono y dirección), al igual que sus respuestas a los cuestionarios y los resultados de sus pruebas clínicas y de laboratorio, serán guardados de manera confidencial, para garantizar su privacidad. Cuando los resultados de este estudio sean publicados o presentados en conferencias, no se dará información que pudiera revelar su identidad, la cual será protegida al asignarle un número que utilizaremos para identificarle en nuestras bases de datos.

**Pago por su participación en el estudio:** Usted NO recibirá pago alguno por participar en este estudio

Si tiene dudas sobre su participación puede comunicarse con el Dr. Luis Javier Méndez Tovar, Investigador principal del estudio adscrito al Laboratorio de Investigación Médica en Dermatología y Micología, Unidad de Investigación Médica en Epidemiología Clínica Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI, IMSS Correo: [ljmt@unam.mx](mailto:ljmt@unam.mx) Teléfono: 56 276900 ext:21480

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4º piso Bloque “B” de la Unidad de Congresos, colonia Doctores, México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56276900 extensión 21230, correo electrónico: [comiteeticainv.imss@gmail.com](mailto:comiteeticainv.imss@gmail.com)

### **Declaración de Consentimiento**

Se me ha explicado con claridad en qué consiste este estudio, además he leído (o alguien me ha leído) el contenido de este formato de consentimiento. Se me han dado la oportunidad de hacer preguntas y todas mis preguntas han sido contestadas a mi satisfacción.

Al firmar este formato estoy de acuerdo en participar en la investigación que aquí se describe.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del Participante      Nombre y firma de testigo 1      Nombre y firma de testigo 2

### **Firma del encargado de obtener el consentimiento informado**

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma del encargado de obtener el consentimiento informado

Hoja de recolección de datos

Instituto Mexicano del Seguro Social  
Centro Médico Nacional Siglo XXI  
Hospital de Especialidades Servicio Dermatología y Micología Médica

Nombre: \_\_\_\_\_ Número de seguro social:  
\_\_\_\_\_

Clave de registro en protocolo \_\_\_\_\_

Sexo \_\_\_\_\_ Edad \_\_\_\_\_

Ocupación \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Tiempo de evolución y variedad clínica de la onicomicosis  
\_\_\_\_\_

Tratamientos previos  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Comorbilidades \_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Tratamiento para las comorbilidades:  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Teléfono y correo electrónico \_\_\_\_\_

Resultados de estudios micológicos:  
Examen directo \_\_\_\_\_

Cultivo \_\_\_\_\_

Resistencia antifúngica \_\_\_\_\_

**Cuadro descriptivo de variables que se analizarán en el estudio**

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
Resistencia antifúngica (Variable dependiente)	Concentración Mínima Inhibitoria (MIC) que excede los límites de susceptibilidad dado para una cepa micotica.	Valor de MIC que supera el valor esperado para una cepa definida medida a través de la técnica de microdilución en placa	Cuantitativa continua	Microgramos/ml
Inmunosupresión	Situación o característica de los pacientes que los hace más susceptible a ciertas condiciones de predominio infecciosas en comparación con la población general.	En términos para el estudio se interrogará por comorbilidades, y se catalogará como inmunosupresión las siguientes condiciones:  a. Enfermedades reumatológicas (Lupus, Artritis reumatoide, enfermedades granulomatosas)  b. Diabetes mellitus	Cualitativa Dicotómica	Ausente=1 Presente=2

		<p>c. VIH</p> <p>d. Enfermedad renal crónica</p> <p>e. Trasplantados</p> <p>f. Uso crónico de esteroides sistémicos (utilizados generalmente para trastornos inflamatorios).</p> <p>g. Inmunosupresores ahorradores de esteroides (Azatioprina, ácido mico fenólico, cloroquina, metotrexato, etc.)</p> <p>h. Uso de agentes biológicos inmunosupresores</p> <p>i. Alguna otra inmunodeficiencia específica</p> <p>La recolección de la comorbilidad será de forma literal, pero se dará una calificación de presente o ausente si cumple o no con las condiciones ya descritas.</p>		
--	--	--	--	--



		Para el análisis se considerará como dicotómica, ya sea que este o no presente la inmunosupresión.		
Tiempo de evolución	Tiempo transcurrido desde la primera identificación del diagnóstico hasta el momento actual	Tiempo transcurrido desde la primera identificación referida por el paciente (Cambios de coloración y forma de las uñas) hasta el momento de su registro	Cuantitativa discreta	Meses
Variedad clínica	Formas clínicas diferentes en las que se puede presentar una misma enfermedad	Forma clínica que determine el medico dermatólogo al realizar la exploración física. Las formas clínicas son: Onicomicosis subungueal distal-lateral: OSD-L Onicomicosis subungueal proximal: OSP Onicomicosis blanca superficial: OBS Onicomicosis distrófica total: ODT	Nominal	OSD-L=1 OSP=2 OBS=3 ODT=4

Tratamiento previo o exposición previa a antimicóticos	Tratamientos farmacológicos usado con anterioridad por el paciente durante la evolución de la enfermedad	Se designará como presente cuando el paciente haya recibido manejo antifúngico sistémico de forma terapéutico o profiláctico, tópico en forma de laca o cremas durante el periodo de evolución de la onicomycosis	Cualitativa dicotómica	Presente=1 Ausente=2
Examen Directo	En estudio micológico, estructuras micóticas observadas mediante microscopia en muestra embebida en KOH	Estará determinado por el investigador principal y el químico encargado del laboratorio de micología. Como resultados probables esta filamentos y estructuras levaduriformes.	Nominal	Filamentos =1 Levaduras =2
Agente causal	En enfermedades infecciosas, es el microorganismo, asociado con una infección específica.	Especie de hongo que se obtenga al cultivo	Nominal	Dermatofitos=1, Levaduras=2 y Hongos filamentosos no dermatofitos=3
Sexo	Taxón que agrupa a especies que	Sexo consignado en la hoja de registro	Cualitativa dicotómica	Mujer=1 Hombre=2

	comparten ciertos caracteres			
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento hasta el momento actual.	Tiempo Transcurrido desde el nacimiento hasta el registro del paciente.	Cuantitativa discreta	Años

## Manual de procedimientos

### Técnicas y procedimientos de laboratorio

#### 1.- Obtención de muestra:

Se obtuvieron escamas de las uñas mediante hoja de bisturí de región subungueal, en el caso de dos uñas afectadas se tomó muestra de la uña con los cambios más evidentes y de mayor tamaño (en la onicomycosis hay predominio de la afección en primeras uñas). A todas las muestras obtenidas de escama se realizó examen directo con hidróxido de Potasio al 15% y cultivo en agar dextrosa Sabouraud (ADS), agar dextrosa Sabouraud con antibióticos (ADS-A), agar lactrimen (medio de Borelli) y en caso necesario CHROMagar® para especies de *Candida*.

#### 2.- Purificación de cepas y cultivos monospóricos

De los aislados positivos (levaduras u hongos filamentosos) se hicieron resiembras purificadas mediante su cultivo en medios especiales con diferentes nutrientes, y una vez desarrolladas, se realizaron cultivos monospóricos los cuales se conservaron hasta su uso posterior.

La obtención de cultivos monospóricos se realizó de la siguiente manera:

1. Agregar con pipeta de 2 mL, 1 mL de solución salina a los tubos con los aislados purificados
2. Verter en un frasco estéril con pipeta de 20 mL, 5 mL de solución salina rotulados con el aislado a diluir
3. Tomar con pipeta de 2 mL y de acuerdo con lo turbio de la solución hecha del cultivo, entre 0.1-0.5 mL y posteriormente verter en el frasco de 5 mL para diluir aún más el cultivo.
4. Tomar 0.2 mL de la solución y realizar siembras en cajas que contenían ADS y ADS-A  
Para el caso de levaduras se hizo extensión en cuatro puntos y en caso de hongos filamentosos se realizó distribución en todo el medio.

La finalidad de los cultivos monospóricos es obtener colonias únicas y disminuir la variabilidad para los estudios de resistencia y biología molecular.

Los cultivos monospóricos se manejarán en campana de flujo laminar de bioseguridad 2 con lo que se espera evitar tanto la contaminación del cultivo como una remota posibilidad de contaminación ambiental.

### **3.- Identificación de especies**

Identificación de género y especie por técnicas fenotípicas y fisiológicas.



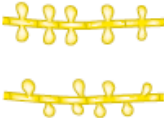


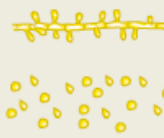









La identificación de levaduras se inicia desde el cultivo en CHROMagar®. La principal diferencia que permite obtener este medio de cultivo es diferenciar entre *Candida albicans* vs *Candida non albicans*, las especies de *C. albicans* tornan las colonias de color verde en la placa de cromógeno. Otras pruebas que ayudan a corroborar los aislados *C. albicans* es el desarrollo de hifas y clamidoconidios en el medio de agar papa-zanahoria adicionado con 1% de Tween 80. La técnica de cultivo consiste en la siembra del agente causal en una estría central en el medio y la colocación de un portaobjeto. Su observación es a las 72 horas, la presencia de hifas/pseudohifas y clamidoconidias corrobora la presencia de especies de *C. albicans*.

Por otra parte, el desarrollo de hifas, pseudohifas y tubo germinativo en medio de agar Muller-Hinton es otra prueba que permite corroborar el desarrollo de es aislados de *C. albicans*. La técnica consiste en la inoculación del agente en la porción central del medio y la colocación de portaobjeto.

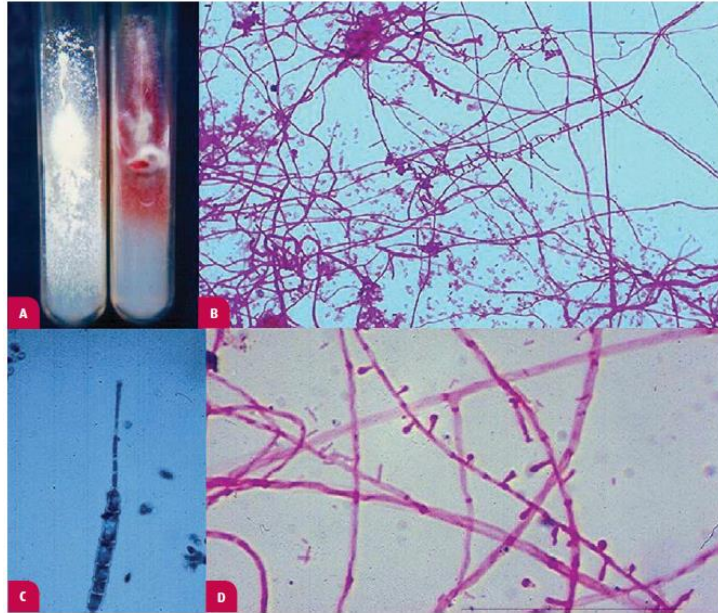
La lectura se realiza a las 2 horas después de incubación a 37°C

En el caso de los aislados filamentosos se identificarán principalmente mediante pruebas morfológicas. La siembra de aislados filamentosos en medios Borelli permite aumentar la conidiación y por lo tanto definir la especie correspondiente. Ver tabla 1 e imágenes 1-3

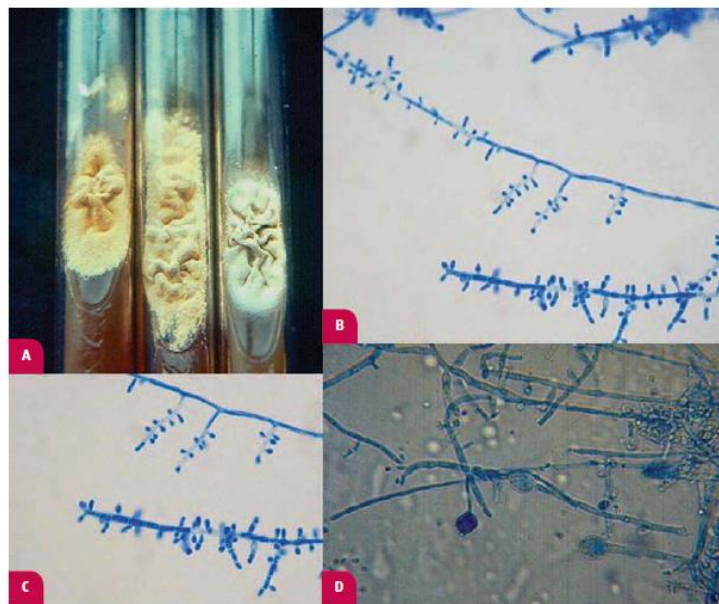
Tabla 1. Características de los dermatofitos más comunes

Dermatofito	Microaleurioconidios (microconidios)	Macroaleurioconidios (macroconidios)	Modalidades	Macromorfología
<i>Trichophyton rubrum</i>	 +++ +	 +	Micelio delgado	Colonia blanca-vellosa o pulverulenta Pigmento rojo
<i>Trichophyton tonsurans</i>	 +++ +	 +	Clamidoconidios 	Colonia beige cerebriforme o crateriforme Pigmento café
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	 + +++	 ++	Zarcillos Espirales 	Colonia blanca-vellosa o pulverulenta Sin pigmento
<i>Microsporum canis</i>	 +	Más de 6 septos 	Raquetas 	Colonia vellosa plano y radial Pigmento amarillo-naranja
<i>Microsporum gypseum</i>	 +	Menos de 6 septos 	Escaso micelio	Colonia beige polvosa Sin pigmento
<i>Epidemophyton floccosum</i>	No presenta		Clamidoconidios 	Colonia beige cerebriforme Pigmento amarillo-verdoso

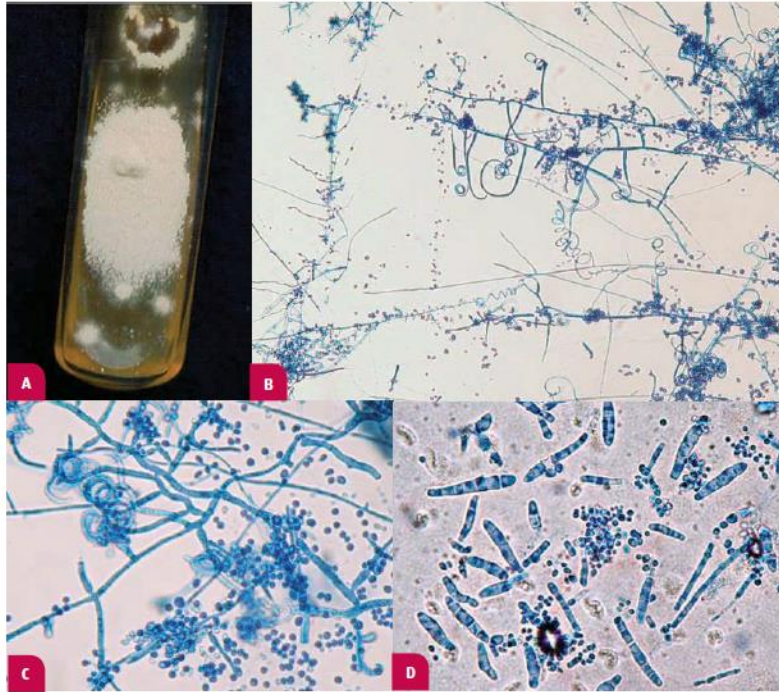
Alejandro Bonifaz, MICOLOGÍA MÉDICA BÁSICA [43]



**Imagen 1.** *T. rubrum*. **A.** Cultivo; **B** microaleurioconidios (10x); **C** Macroaleurioconidios y **D** microaleurioconidios (60X) [43]



**Imagen 2.-** *T. tonsurans*. **A.** Cultivo; **B** microaleurioconidios (40x); **C** Microaleurioconidios (60x), y **D** clamidoconidios (40x) (cortesía: Casanova M, SLP, México).[43]



**Imagen 3.-** *T. mentagrophytes* **A.** Cultivo; **B** microaleurioconidios y espirales (10x); **C** microaleurioconidios sueltos y **D** macroaleurioconidios (40x)[43]

#### **4.- Estudios de resistencia *in vitro***

Estudios de sensibilidad por la técnica de Microdilución en caldo, siguiendo la metodología y los lineamientos propuestos por el CLSI en su documento M27 A3 para hongo levaduriformes.

De manera resumida se realizó el siguiente procedimiento (figura 2):

- 4.i. Con cada aislado preparar una suspensión con  $10^6$  UFC por mL.
- 4.ii. Preparar soluciones de los antifúngicos a probar, a las concentraciones adecuadas.
- 4.iii. A cada pozo se le agregan 100  $\mu$ L de un antimicótico diferente en las concentraciones preparadas (la mayor concentración en la columna 1 y la menor en la columna 10).
- 4.iv. Se agregan 100  $\mu$ L de la suspensión del aislado a probar.

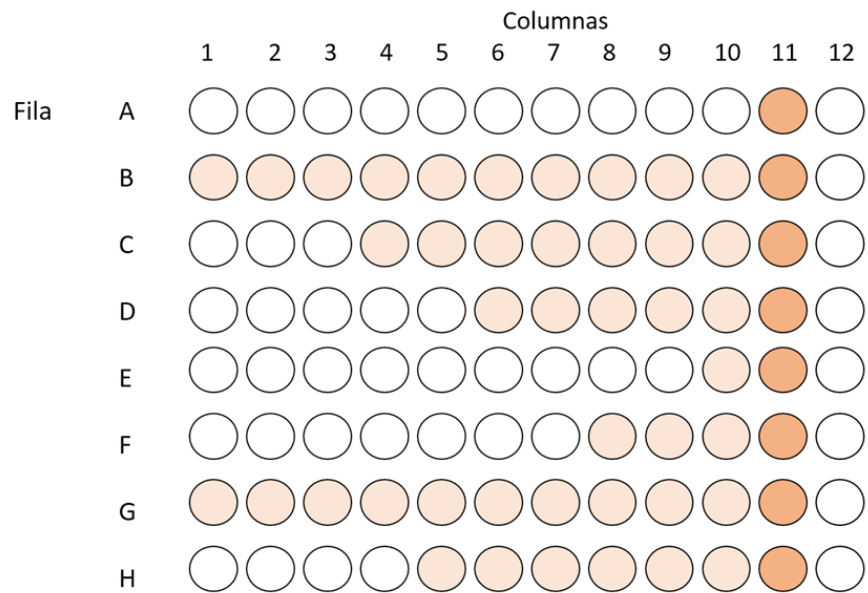


4.v. La columna 11 solo contiene la suspensión del aislado a probar (control de viabilidad); la columna 12 tiene los medios y los antimicóticos sin el aislado a probar (control de esterilidad).

4.vi. Incubar la placa a 35°C y revisar diariamente el crecimiento. La interpretación de la placa siguiente sería:

- El aislado está viable.
- El material empleado está estéril.
- El antifúngico colocado en la fila A, es eficiente en todas las concentraciones probadas.
- El antifúngico colocado en la fila B, no impide el crecimiento del hongo en ninguna de las concentraciones probadas.
- El antifúngico colocado en la fila C, impide el desarrollo en las tres concentraciones más elevadas.
- El antifúngico colocado en la fila F, impide el desarrollo en las primeras 7 concentraciones probadas.

Figura 2.- Microdilución en placa



4.vii. Los resultados obtenidos se compararán con los puntos de corte establecidos por el CLSI y EUCAST. La tabla 2 muestra los puntos de corte descritos para el género *Candida*. [44]

Tabla 2. Puntos de corte clínicos (CBP) y puntos de corte epidemiológicos (ECV/ECOFF) para *Candida spp*

		Puntos de corte clínicos (mg/l)						Puntos de corte epidemiológicos (mg/l)					
		S ≤		I		S-DD		R ≥		WT ≤		NWT ≥	
		CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST	CLSI	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST	
Anidulafungina	<i>C. albicans</i>	0,25	0,03	0,5			<b>1</b>	<b>0,06</b>	0,12		0,25		
	<i>C. auris</i>								0,5	1	1	2	
	<i>C. dubliniensis</i>		-						0,12		0,25		
	<i>C. glabrata</i>	0,12	0,06	0,25			0,5	0,12	0,25		0,5		
	<i>C. guilliermondii</i>	2		4			8		8		16		
	<i>C. krusei</i>	0,25	0,06	0,5			<b>1</b>	<b>0,12</b>	0,25		0,5		
	<i>C. lusitaniae</i>								1		2		
	<i>C. parapsilosis</i>	<b>2</b>	<b>0,002</b>	4			8	8	8		16		
	<i>C. tropicalis</i>	0,25	0,06	0,5			<b>1</b>	<b>0,12</b>	0,12		0,25		
Caspofungina	<i>C. albicans</i>	0,25		0,5			1						
	<i>C. glabrata</i>	0,12		0,25			0,5						
	<i>C. guilliermondii</i>	2		4			8						
	<i>C. krusei</i>	0,25		0,5			1						
	<i>C. parapsilosis</i>	2		4			8						

Micafungina	<i>C. tropicalis</i>	0,25		0,5			1					
	<i>C. albicans</i>	<b>0,25</b>	<b>0,016</b>	0,5			1	0,03	0,03		0,06	
	<i>C. auris</i>								0,5	0,5	1	1
	<i>C. dubliniensis</i>								0,12		0,25	
	<i>C. glabrata</i>	0,06	0,03	0,12			0,25	0,06	0,03		0,06	
	<i>C. guilliermondii</i>	2		4			8		2		4	
	<i>C. krusei</i>	0,25		0,5			1		0,25		0,5	
	<i>C. lusitaniae</i>								0,5		1	
	<i>C. parapsilosis</i>	<b>2</b>	<b>0,002</b>	4			8	4	4		8	
Fluconazol	<i>C. tropicalis</i>	0,25		0,5			1		0,06		0,12	
	<i>C. albicans</i>	2	2			4	8	8	0,5		1	
	<i>C. dubliniensis</i>								0,5		1	
	<i>C. glabrata</i>		0,002			≤ 32	64	64	8		16	
	<i>C. guilliermondii</i>								8		16	
	<i>C. lusitaniae</i>								1		2	
	<i>C. parapsilosis</i>	2	2			4	8	8	1		2	

		Puntos de corte clínicos (mg/l)						Puntos de corte epidemiológicos (mg/l)					
		S ≤		I		S-DD		R ≥		WT ≤		NWT ≥	
		CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST	CLSI	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST	CLSI	EUCAST	
Itraconazol	<i>C. tropicalis</i>	2	2			4	8	8		1		2	
	<i>C. neoformans</i>									8			
	<i>C. albicans</i>		0,06							0,06			
	<i>C. auris</i>									0,5	0,5	1	1
	<i>C. dubliniensis</i>		0,06							0,12		2	4
	<i>C. glabrata</i>									4	2	8	4
	<i>C. krusei</i>									1	1	2	2
	<b><i>C. lusitaniae</i></b>									1	<b>0,125</b>	2	<b>0,25</b>
	<i>C. parapsilosis</i>		0,125					0,25	0,25		0,125		0,25
	<i>C. tropicalis</i>		0,125					0,25	0,25	0,5	0,125	1	0,25
Isavuconazol	<i>C. auris</i>									-	1	-	2
	<i>C. dubliniensis</i>										0,06		0,125
Posaconazol	<i>C. albicans</i>		0,06							0,06		0,12	
	<i>C. auris</i>									-	0,25	-	0,5
	<i>C. dubliniensis</i>		0,06							0,12			

Voriconazol	<i>C. glabrata</i>									1		2	
	<i>C. guilliermondii</i>									0,5		1	
	<i>C. krusei</i>									0,5		1	
	<i>C. lusitaniae</i>									0,06		0,12	
	<i>C. parapsilosis</i>		0,06						0,12	0,25		0,5	
	<i>C. tropicalis</i>		0,06						0,12	0,12		0,25	
	<i>C. albicans</i>	0,12	0,06	0,25-0,5			1	0,5	0,03			0,06	
	<i>C. dubliniensis</i>		0,06						0,5				
	<i>C. glabrata</i>									0,25		0,5	
	<i>C. krusei</i>	0,5		1			2		0,5			1	
Anfotericina B	<i>C. parapsilosis</i>	0,12	0,12	0,25-0,5			1	0,5	0,03			0,06	
	<i>C. tropicalis</i>	0,12	0,12	0,25-0,5			1	0,5	0,12			0,25	
	<i>C. albicans</i>		1						2	2		4	
	<i>C. auris</i>								2	1	4	2	
	<i>C. glabrata</i>		1						2	2		4	
	<i>C. krusei</i>		1						2	2		4	
	<i>C. parapsilosis</i>		1						2	2		4	
	<i>C. tropicalis</i>		1						2	2		4	

CLSI: Committee for Clinical and Laboratory Standards; EUCAST: European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing; I: cepas intermedias; NWT: *non-wild type* (no pertenece a la población salvaje); S: cepas sensibles; S-DD: cepas sensibles dependiendo de la dosis administrada; R: cepas resistentes; WT: *wild type* (población salvaje).

## XX. REFERENCIAS

1. Hudson, M.M., *Antifungal resistance and over-the-counter availability in the UK: a current perspective*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2001. **48**(3): p. 345-350.
2. White, T.C., K.A. Marr, and R.A. Bowden, *Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance*. Clinical microbiology reviews, 1998. **11**(2): p. 382-402.
3. Yang, Y.-L. and H.-J. Lo, *Mechanisms of antifungal agent resistance*. Journal of microbiology, immunology, and infection= Wei mian yu gan ran za zhi, 2001. **34**(2): p. 79-86.
4. Wolff, K., et al., *Fitzpatrick's dermatology in general medicine, 2 volumes*. Transplantation, 2008. **85**(654).
5. Loeffler, J. and D.A. Stevens, *Antifungal drug resistance*. Clinical infectious diseases, 2003. **36**(Supplement\_1): p. S31-S41.
6. Cowen, L.E., et al., *Mechanisms of antifungal drug resistance*. Cold Spring Harbor perspectives in medicine, 2015. **5**(7): p. a019752.
7. Martinez, M., et al., *Heterogeneous mechanisms of azole resistance in Candida albicans clinical isolates from an HIV-infected patient on continuous fluconazole therapy for oropharyngeal candidosis*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 2002. **49**(3): p. 515-524.
8. Price, M.F., M.T. LaRocco, and L.O. Gentry, *Fluconazole susceptibilities of Candida species and distribution of species recovered from blood cultures over a 5-year period*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 1994. **38**(6): p. 1422-1424.
9. González, G.M., M. Elizondo, and J. Ayala, *Trends in species distribution and susceptibility of bloodstream isolates of Candida collected in Monterrey, Mexico, to seven antifungal agents: results of a 3-year (2004 to 2007) surveillance study*. Journal of clinical microbiology, 2008. **46**(9): p. 2902-2905.
10. Robledo-Leal, E., M. Elizondo-Zertuche, and G.M. González, *Susceptibility of dermatophytes to thiabendazole using clsi broth macrodilution*. ISRN dermatology, 2012. **2012**.
11. Posteraro, B., et al., *Antifungal susceptibility testing: current role from the clinical laboratory perspective*. Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases, 2014. **6**(1).
12. Lass-Flörl, C., S. Perkhofer, and A. Mayr, *In vitro susceptibility testing in fungi: a global perspective on a variety of methods*. Mycoses, 2010. **53**(1): p. 1-11.
13. Sigurgeirsson, B. and R. Baran, *The prevalence of onychomycosis in the global population—a literature study*. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology, 2014. **28**(11): p. 1480-1491.
14. Ghannoum, M., et al., *A large-scale North American study of fungal isolates from nails: the frequency of onychomycosis, fungal distribution, and antifungal susceptibility patterns*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2000. **43**(4): p. 641-648.
15. Arenas, R. and D. Ocejó, *Onicomycosis: frecuencia actual en un departamento de dermatología de la Ciudad de México*. Dermatol. rev. mex, 1997. **41**(5): p. 171-5.
16. Valdivia, R.M.T., *Prevalencia de onicomycosis y sus agentes etiologicos en el hospital de especialidades. Experiencia de 20 años*. 2006.
17. Baran, R., *Onicomycosis*. 2007: Elsevier España.
18. Levy, L.A., *Epidemiology of onychomycosis in special-risk populations*. Journal of the American Podiatric Medical Association, 1997. **87**(12): p. 546-550.
19. Gupta, A., J. Ryder, and A. Johnson, *Cumulative meta-analysis of systemic antifungal agents for the treatment of onychomycosis*. British Journal of Dermatology, 2004. **150**(3): p. 537-544.

20. Gupta, A.K., P. Fleckman, and R. Baran, *Ciclopirox nail lacquer topical solution 8% in the treatment of toenail onychomycosis*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2000. **43**(4): p. S70-S80.
21. Fuentefria, A.M., et al., *Antifungals discovery: an insight into new strategies to combat antifungal resistance*. Letters in applied microbiology, 2018. **66**(1): p. 2-13.
22. Manzano-Gayosso, P., et al., *Antifungal resistance: an emerging problem in Mexico*. Gaceta medica de Mexico, 2008. **144**(1): p. 23.
23. Méndez-Tovar, L.J., et al., *Resistance to azolic compounds in clinical Trichophyton spp. strains*. Revista iberoamericana de micología, 2007. **24**(4): p. 320.
24. Manzano-Gayosso, P., et al., *Onychomycosis-causing yeasts in four Mexican dermatology centers and their antifungal susceptibility to azolic compounds*. Revista iberoamericana de micología, 2010. **28**(1): p. 32-35.
25. Pfaller, M.A., *Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment*. The American journal of medicine, 2012. **125**(1): p. S3-S13.
26. Bradley, M., et al., *Antifungal susceptibilities and genetic relatedness of serial Trichophyton rubrum isolates from patients with onychomycosis of the toenail*. Mycoses, 1999. **42**: p. 105-110.
27. Martins, M.P., et al., *Compensatory expression of multidrug-resistance genes encoding ABC transporters in dermatophytes*. Journal of medical microbiology, 2016. **65**(7): p. 605-610.
28. De Gante, N.A.P., *Prevalencia de resistencia a antifúngicos y de mutaciones en genes asociados en especies de Candida aisladas de pacientes ginecológicas*. 2010.
29. Fuentes, M., et al., *Caracterización de los mecanismos de resistencia a azoles en aislados clínicos chilenos de Candida albicans*. Revista chilena de infectología, 2014. **31**(5): p. 511-517.
30. Gupta, A.K., J. Carviel, and N.H. Shear, *Antibiofilm treatment for onychomycosis and chronic fungal infections*. Skin appendage disorders, 2018. **4**(3): p. 136-140.
31. Gupta, A.K., et al., *Prevalence and epidemiology of onychomycosis in patients visiting physicians' offices: a multicenter Canadian survey of 15,000 patients*. Journal of the American Academy of Dermatology, 2000. **43**(2): p. 244-248.
32. Welsh, O., L. Vera-Cabrera, and E. Welsh, *Onychomycosis*. Clinics in dermatology, 2010. **28**(2): p. 151-159.
33. Gupta, A.K. and R.R. Mays, *The impact of onychomycosis on quality of life: a systematic review of the available literature*. Skin appendage disorders, 2018. **4**(4): p. 208-216.
34. Fich, F., et al., *Candida parapsilosis and Candida guilliermondii: emerging pathogens in nail candidiasis*. Indian journal of dermatology, 2014. **59**(1): p. 24.
35. Gautret, P., et al., *Case report and review. Onychomycosis due to Candida parapsilosis*. Mycoses, 2000. **43**(11-12): p. 433-435.
36. Oyarzo, P.V. and R.C. Choappa, *Onicomycosis por levaduras: agentes y estudio de sensibilidad en la región de Valparaíso, Chile*. Revista Iberoamericana de Micología, 2015. **32**(2): p. 132-133.
37. Saleh, R., et al., *In-vitro antifungal susceptibility testing of fungi in patients with onychomycosis*. Dermatologic Therapy, 2020.
38. Evans, E., *Resistance of Candida species to antifungal agents used in the treatment of onychomycosis: a review of current problems*. The British journal of dermatology, 1999. **141**: p. 33-35.
39. Lortholary, O., et al., *Recent exposure to caspofungin or fluconazole influences the epidemiology of candidemia: a prospective multicenter study involving 2,441 patients*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2011. **55**(2): p. 532-538.
40. Shah, D.N., et al., *Impact of prior inappropriate fluconazole dosing on isolation of fluconazole-nonsusceptible Candida species in hospitalized patients with candidemia*. Antimicrobial agents and chemotherapy, 2012. **56**(6): p. 3239-3243.

41. Gupta, A.K. and Y. Kohli, *Evaluation of in vitro resistance in patients with onychomycosis who fail antifungal therapy*. *Dermatology*, 2003. **207**(4): p. 375-380.
42. Vega, Á.I.P., *Cumplimiento normativo en el control de la venta y la dispensación de antibióticos en farmacias y perspectivas en México en combate a la Resistencia Antimicrobiana (RAM)*.
43. Bonifaz, A., *Micología médica básica*. 2000: Méndez Editores.
44. Méndez, C.C., E.G. Sánchez, and E. Martín-Mazuelos, *Actualización de los métodos de estudio de sensibilidad in vitro a los antifúngicos*. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 2019. **37**: p. 32-39.