



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

CARACTERIZACIÓN DE ESPECIES DE *CANDIDA* AISLADAS DE PACIENTES CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA EN TRATAMIENTO CON DIÁLISIS PERITONEAL CONTINUA AMBULATORIA. DE 2016 A 2018.

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

Gabriela Morales García



CIUDAD UNIVERSITARIA, CD.MX. 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: ABEL GUTIÉRREZ RAMOS

VOCAL: JAVIER ARAIZA SANTIBÁÑEZ

SECRETARIO: MARÍA DE LOS ANGELES PATRICIA MANZANO GAYOSSO

1er. SUPLENTE: GENARO JIMÉNEZ REYES

2º SUPLENTE: FRANCISCO JAVIER DÍAZ GARCÍA

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:

ESTE TRABAJO FUE REALIZADO EN LA UNIDAD DE MICOLOGÍA. DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. FM/DI/133/2017.

INSTITUCIÓN COLABORADORA: HOSPITAL “DR. DARÍO FERNÁNDEZ FIERRO” DEL INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS TRABAJADORES DEL ESTADO (ISSSTE).

ASESOR DEL TEMA:

M. en C. María de los Angeles Patricia Manzano Gayosso

SUSTENTANTE:

Gabriela Morales García

Agradecimientos

Por su apoyo y confianza para la realización de este trabajo a la M. en C. María de los Angeles Patricia Manzano Gayosso.

Por su valiosa colaboración en la realización de esta tesis a:

QFB. Joaquín González Monroy

QFB. Ileana B. Gálvez-Gallo

A la Unidad De Micología de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Autónoma de México y al Laboratorio de análisis clínicos del Hospital “Dr. Darío Fernández Fierro” del ISSSTE, por abrirme sus puertas y permitirme aprender de ustedes.

INDICE

1	Introducción	1
1.1	Enfermedad Renal Crónica	1
1.1.1	Antecedentes históricos de la patología renal	1
1.1.2	Definición de enfermedad renal crónica	2
1.1.3	Clasificación.....	2
1.1.4	Epidemiología.....	3
1.1.5	Factores de riesgo en la Enfermedad renal crónica.	6
1.1.6	Tratamiento de la Insuficiencia renal crónica.....	7
1.2	Diálisis Peritoneal Continua Ambulatoria	8
1.2.1	Complicaciones	10
1.2.1.1	Infección del sitio de salida.....	11
1.2.1.2	Peritonitis.....	11
1.2.1.3	Agentes etiológicos	12
1.3	Aspectos generales de las especies de <i>Candida</i>	13
1.3.1	Especies de <i>Candida</i> causantes de infecciones en pacientes sometidos a DPCA.	13
1.3.1.1	<i>Candida parapsilosis</i>	14
1.3.1.2	<i>Candida albicans</i>	15
1.3.1.3	<i>Candida tropicalis</i>	15
1.3.1.4	<i>Candida lusitaniae</i>	15
1.3.1.5	<i>Candida pelliculosa</i>	16
1.3.2	Factores de virulencia de las especies de <i>Candida</i>	16
1.4	Biopelículas.....	19
1.4.1	Componentes de las biopelículas	19
1.4.2	Formación y desarrollo de biopelículas	21
1.5	Diagnóstico y métodos para la identificación de <i>Candida</i> spp.	24
1.5.1	Identificación fenotípica	24
1.5.1.1	Criterios morfológicos macroscópicos.....	24
1.5.1.2	Criterios morfológicos microscópicos	25

1.5.1.3	Identificación por pruebas bioquímicas	27
1.6	Tratamiento de las complicaciones de la DPCA en pacientes con IRC ...	29
1.7	Pruebas de sensibilidad antifúngica	32
2	Antecedentes	36
3	Planteamiento del problema	40
4	Objetivos	42
4.1	Objetivo general	42
4.2	Objetivos particulares	42
5	Metodología	43
5.1	Material biológico	43
5.2	Toma de muestras y su procesamiento en el Laboratorio de Microbiología del Hospital “Dr. Darío Fernández Fierro”, ISSSTE.	43
5.3	Pruebas fenotípicas para identificación de los aislados levaduriformes en la Unidad de Micología del Departamento de Microbiología y parasitología, Facultad de Medicina, UNAM.	44
5.3.1	Identificación por criterios enzimáticos y bioquímicos.	44
5.3.2	Identificación por criterios microscópicos	45
5.4	Pruebas de sensibilidad antifúngica por microdilución en caldo M27-A3.	46
5.5	Evaluación de la formación de biopelículas en microplacas y cristal violeta.	48
5.5.1	Interpretación de los resultados	49
5.6	Análisis estadístico	50
6	Resultados	51
6.1	Microorganismos identificados en las muestras de líquido de diálisis (LD) y sitio de salida (SS).	51
6.1.1	Microorganismos aislados de muestras de líquido de diálisis.	51
6.1.2	Microorganismos aislados de muestras de sitio de salida del catéter.	53
6.2	Identificación fenotípica de los aislados levaduriformes	57
6.2.1	Criterios macroscópicos, enzimáticos y bioquímicos	57
6.3	Patrón de sensibilidad y especies de <i>Candida</i>	65
6.3.1	Relación entre los aislados de LD y su patrón de sensibilidad	65

6.3.2	Relación entre los aislados de muestras de SS y su patrón de sensibilidad	66
6.3.3	Comparación de la actividad de los antifúngicos los aislados de <i>Candida parapsilosis</i> de muestras de LD y SS	68
6.4	Evaluación de la formación de biopelículas por el método de cristal violeta.....	70
7	Discusión	72
8	Conclusiones	77
9	Abreviaturas.....	78
10	Anexos	80
10.1	Anexo 1.....	80
10.2	Anexo 2. Medios de cultivo	81
11	Referencias	89

1 Introducción

1.1 Enfermedad Renal Crónica

La enfermedad renal crónica (ERC) es una condición que se caracteriza por la alteración en la función renal, es decir en la regulación del contenido de agua y electrolitos, el equilibrio ácido-base y la eliminación de los productos metabólicos de desecho como la urea, ácido úrico y creatinina a través de los riñones y su unidad funcional (nefrona).

1.1.1 Antecedentes históricos de la patología renal

Las primeras descripciones de la patología renal se remontan al antiguo Egipto (1500 a.C.). Sin embargo, Hipócrates de Cos (Grecia) (460-370 a.C.) fue el primero en especificar los cambios macroscópicos en la orina que reflejaban determinadas enfermedades del riñón, “él creía que ningún otro sistema u órgano del cuerpo podía dar más información como lo hacía el aparato urinario” ⁷⁶.

A finales del siglo XVIII se describieron los tres síndromes principales de la enfermedad renal: el síndrome nefrótico, por Theodore Zwinger en Basilea; la nefritis aguda y la enfermedad renal crónica, por el médico Inglés Richard Bright, quien relacionó la presencia simultánea de albuminuria, hidropesía y la lesión del parénquima renal con la hipertensión¹⁵⁵. Más tarde los alemanes Ernst von Leyden (1832-1910) y Ludwig Traube (1818-1876) complementaron la asociación entre enfermedad cardíaca y enfermedad renal⁷⁶. Por otra parte, los patrones de evolución de la “nefritis” hacia insuficiencia renal avanzada fueron observados y analizados por Thomas Addis (1881-1949) y Donald D. Van Slyke (1883-1971) en Estados Unidos de América (EUA) y complementados con los cambios histopatológicos en el tejido renal, a partir de 1950 ^{76,155}.

Otro de los hechos relevantes a destacar fue la introducción de la diálisis peritoneal para el tratamiento de la ERC en etapa terminal (Insuficiencia renal crónica (IRC)). La publicación más antigua que describe la aplicación de un catéter y la administración de soluciones en la cavidad peritoneal data de 1755 y 1763 durante la guerra de los 7 años, donde Christopher Warrick, cirujano inglés, introdujo un

catéter en el abdomen de un paciente y le administró agua de Bristol y licor, con la idea de cerrar los linfáticos y curar la ascitis ¹⁶⁷. Putnam (1894-1975) consideró que la función del peritoneo era de una membrana que permitía que se llevara a cabo el equilibrio osmótico; así mismo descubrió que la teoría de Graham en membranas de celulosa podría aplicarse al peritoneo ¹³⁸. Por otro lado, Georg Ganter (1885-1940), en Alemania, planteó por primera vez la capacidad de esta membrana para extraer sustancias^{76, 61}. Finalmente, Doolan en 1959, fabricó el primer catéter que se elaboró específicamente para la diálisis peritoneal en el tratamiento de los pacientes con ERC en etapa terminal. Este trabajo fue la base para el desarrollo posterior del concepto de la diálisis peritoneal continua ambulatoria (DCPA), que fue introducido por Popovich y Moncrief entre 1976 y 1978 ¹³⁴. Oriopoulos *et al.*, en 1978, modernizaron el procedimiento con el uso de bolsas flexibles ¹²⁴.

1.1.2 Definición de enfermedad renal crónica

Las guías KDOQI (Iniciativa de calidad de los resultados de la enfermedad renal, por sus siglas en inglés), de la “National Kidney Foundation” (NKF) de EUA, definen a la ERC como la reducción de la tasa de filtración glomerular (TFG) y/o presencia de daño renal que persiste durante al menos tres meses, demostrado por estudios de laboratorio ¹¹⁸.

Los criterios para establecer el diagnóstico de ERC son: 1) daño renal diagnosticado por método directo (alteraciones histológicas en la biopsia renal); 2) daño renal diagnosticado de forma indirecta por marcadores (creatinina, albuminuria o proteinuria elevadas, alteraciones en el sedimento urinario; 3) alteraciones en pruebas de imagenología ¹¹⁸.

1.1.3 Clasificación

La ERC es un proceso fisiopatológico de carácter progresivo que frecuentemente lleva a un estado terminal. Se clasifica en cinco etapas, cuyas características principales se muestran en el cuadro 1.

Cuadro 1. Relación entre las etapas de la ERC y el daño renal ¹¹⁸

Etapa	Características
1	Leve con TFG normal: ≥ 90 mL/min/1.73m ²
2	Leve con TFG anormal: 60- 89 mL/min/1.73m ²
3	Moderado con TFG anormal: 30-59 mL/min/1.73m ²
4	Insuficiencia Renal Crónica con TFG: 15-29 mL/min/1.73m ²
5	Insuficiencia Renal Crónica terminal con TFG: <15 mL/min/1.73m ²
TFG: Tasa de filtración glomerular (Depuración de creatinina); Área corporal de un adulto = 1.73 m ²	

La TFG es la velocidad a la cual las sustancias de desecho son filtradas a través del glomérulo; se expresa en mL/min y se mide por pruebas de depuración de alguna sustancia excretada en orina, generalmente creatinina. La TFG es un parámetro usado para medir la capacidad funcional de los riñones y como indicador del número de nefronas funcionales.

La insuficiencia renal crónica (IRC) corresponde a las etapas 4 y 5 de la ERC, por la pérdida progresiva, permanente e irreversible de la TFG. Este daño es el resultado de la reducción en el número de nefronas con la consecuente incapacidad renal para llevar a cabo funciones depurativas, excretoras, reguladoras y endocrino-metabólicas.

1.1.4 Epidemiología

La ERC es considerada un problema de salud pública a nivel mundial, debido al aumento en la incidencia y prevalencia⁵⁶. La incidencia varía de acuerdo con el continente o país (Cuadro 2) por las diferencias en las tasas de enfermedades predisponentes y la disponibilidad del tratamiento en los pacientes ^{33, 57, 80, 82, 83, 97, 150, 169}.

Cuadro 2. Incidencia de la ERC en Europa y algunos países.

País o continente	Año	Incidencia (pmh)	Referencia
EUA	2008	351	(Housman AE, <i>et al.</i> 2010) (Levey AS, <i>et al.</i> 2012)
Europa	2003	135	(El Nahas, <i>et al.</i> 2005) (Xie Y, <i>et al.</i> 2008)
Taiwan	1990	126	(Shang JH, <i>et al.</i> 2010) (Levey AS, <i>et al.</i> 2012)
	2001	331	
India	2004	232	(Jha Vivekanand. 2009)
Malasia	2006	304	(Jha Vivekanand. 2009)
China	1999	155	(Xie Y, <i>et al.</i> 2008)
	2005	307	(Chen J. 2010)

ERC = Enfermedad renal crónica; pmh = Por millón de habitantes; EUA = Estados Unidos de América

Por otro lado, la prevalencia a nivel mundial se estima que es del 8 % al 16 %^{78, 83}. En el cuadro 3 se muestran diferentes publicaciones sobre la prevalencia de la ERC e IRC^{69, 70, 125}.

Cuadro 3. Comparación de cuatro estudios y la prevalencia de la ERC.

Etapa de ERC	Global ⁷⁸ (%)	EUA: NHANES III ⁷⁰		España	
		1988-1994 (%)	1994-2004 (%)	EPIRCE: 2010 ¹²⁵ (%)	Sociedad española de nefrología: 2018 ⁶⁹ (%)
1	3.5	3.3	5.7	0.99	1.5
2	3.7	3.0	5.4	1.3	1.8
3	7.4	4.3	5.4	6.5	11.6
4 (IRC)	0.5	0.2	0.4	0.27	0.2
5 (IRC)		0.2		0.03	
TOTAL	15.1	11	16.9	9.09	15.1

ERC = Enfermedad renal crónica
EUA = Estados Unidos de América
NHANESIII = Third National Health and Nutrition Examination Survey
EPIRCE = Estudio Epidemiológico de la Insuficiencia Renal en España
IRC = Insuficiencia renal crónica

En la población mexicana, la prevalencia de la ERC ha presentado el mismo fenómeno mundial, aunque no se tiene información precisa, ya que en México no

se cuenta con un registro nacional centralizado de casos de padecimientos renales; sin embargo, los datos se obtienen de los programas de evaluación temprana de la función del riñón y en la detección de las etapas de ERC, llevada a cabo por la Fundación mexicana del riñón y por las encuestas epidemiológicas en poblaciones mexicanas que viven en EUA. Por ejemplo, En Jalisco, en el 2011 se realizó un estudio en 7,689 pacientes diabéticos y los autores demostraron que el 44 % de los pacientes desarrollo ERC; por lo tanto, a nivel nacional, por el análisis de los diferentes estudios, se considera que alrededor de 6.2 millones de diabéticos cursa con ERC, de los cuales el 98% está en etapa 1-3 y el 2 % requiere de terapia sustitutiva con diálisis peritoneal, hemodiálisis y trasplante (Figura 1)¹⁵⁶.

De los estudios de encuestas nacionales sobre ERC y terapia sustitutiva, destaca la que se realizó en 1992, donde la prevalencia de pacientes sometidos a diálisis peritoneal (DP) fue de 200 casos por millón de habitantes (pmh), cifra considerada como la prevalencia de IRC en México, dado que la mayoría de los pacientes con IRC fueron tratados con DP ¹²⁷.

El Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), ha desarrollado en las unidades médicas de segundo nivel registros propios de casos con padecimientos renales en 21 estados de la República mexicana (Censo de administración de pacientes con Insuficiencia Renal Crónica (CIRC)). En el CIRC se ha observado un crecimiento progresivo del número de pacientes con ERC ¹¹¹. En 2005 se estimó una incidencia de pacientes con IRC de 377 casos pmh y una prevalencia de 1.142 pmh ^{8, 110}. Otro censo realizado de enero a diciembre de 2014 indica que el 0.1 % de la población derechohabiente al IMSS padece IRC y se encuentra en tratamiento sustitutivo ¹⁰⁹.

De acuerdo con el estudio Global Burden of Disease 2010, la ERC ocupó el lugar 27 de la lista de causas de muerte a nivel mundial, con ligera variación en la tasa de mortalidad anual (de 15.7 por 100 000 a 16.3 por 100 000) ⁸³. En México, la mortalidad que se ha presentado en los pacientes con ERC y DPCA ha sido en el 70% de los casos ¹⁵⁶.

1.1.5 Factores de riesgo en la Enfermedad renal crónica.

El incremento progresivo del número de pacientes con ERC y consecuentemente IRC es debido al aumento de las enfermedades que afectan al riñón, como son: diabetes mellitus (DM), hipertensión arterial, obesidad, enfermedad cardiovascular, enfermedades oncológicas, problemas obstructivos y el daño por fármacos. Mundialmente, en los países industrializados, la principal comorbilidad asociada es la DM ¹⁵⁶. Algunos autores reportan que el riesgo de padecer IRC aumenta con la edad ^{70, 97}; el grupo de edad de 60 a 69 años ha sido el más afectado ¹¹¹.

Koye DN, *et al.*⁹⁰, realizaron una revisión a nivel mundial, en la cual destaca la ERC como un problema importante de salud entre los pacientes con DM tipo 2 (DM2). La incidencia en el desarrollo de TFG <60 mL / min / 1.73 m² fue de 2 a 4 % anual, esto fue reportado en 17 estudios de 2003 a 2015; por otro lado, la tasa de incidencia anual de ERC en etapa terminal reportada en 40 estudios, vario de 0.04 % a 1.8 %.

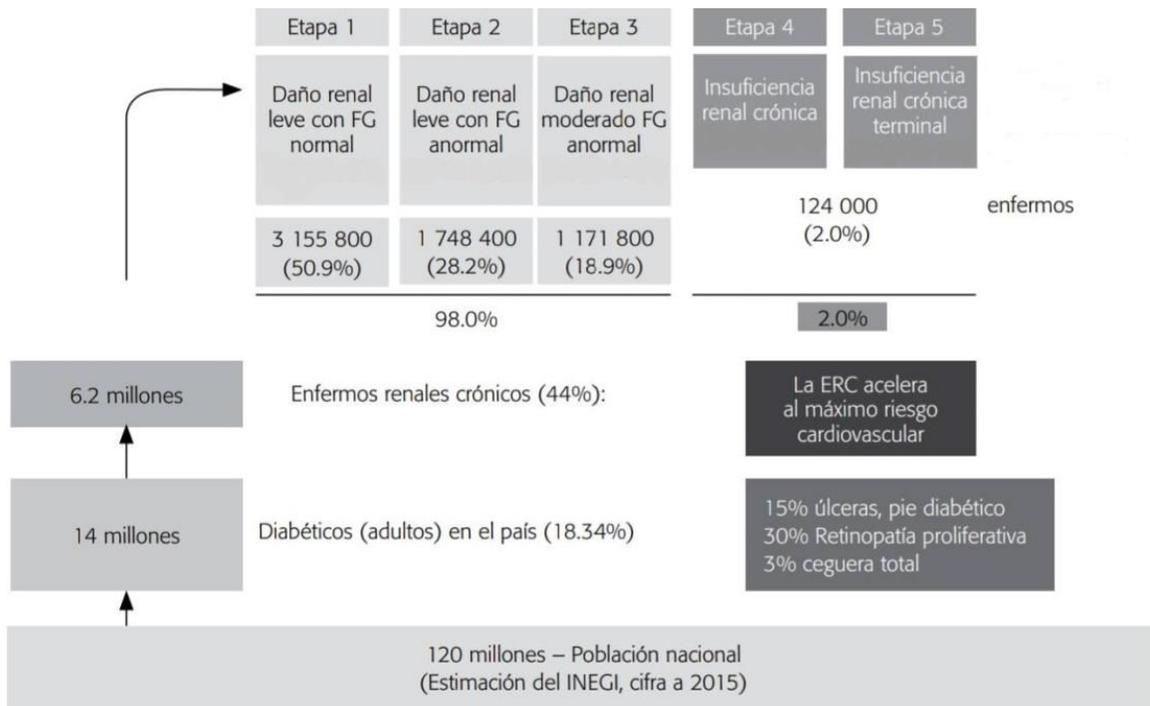


Figura 1. Estimación sobre la dimensión de la ERC e IRC por diabetes en México. Tomado y modificado de Juan A. Tamayo y Orozco H. Santiago Lastiri Quirós ¹⁵⁶.

1.1.6 Tratamiento de la Insuficiencia renal crónica

El daño en los riñones observado en los pacientes con IRC es irreversible, por lo que requieren de algún tratamiento que sustituya parcialmente la función renal.

El tratamiento sustitutivo está basado en el trasplante renal y en la diálisis, bajo cualquiera de sus modalidades.

- a) **Trasplante renal:** Es una alternativa para personas con IRC, consiste en la transferencia de un riñón de un individuo a otro y que se integre al organismo. Es el tratamiento de elección para IRC, ya que un trasplante exitoso se asocia con mejoría en la supervivencia, en la calidad de vida y en los costos de salud ^{113, 156}.
- b) **Diálisis:** las dos modalidades de este procedimiento son hemodiálisis y diálisis peritoneal. La elección del tratamiento dependerá del paciente, su edad, de su estado clínico, entorno socio-familiar, recursos disponibles, y la experiencia profesional del médico (Cuadro 4) ⁴².

Cuadro 4. Diálisis como tratamiento sustitutivo de la función renal ^{42, 101}.

Modalidad	Descripción
Hemodiálisis (HD)	Se realiza a través de un acceso vascular (catéter o fístula), con dirección hacia un circuito extracorpóreo (dializador), en el que se encuentra una membrana artificial que filtra la sangre, la cual regresa, una vez depurada, al organismo a través del acceso.
Diálisis peritoneal (DP)	El peritoneo es como membrana de diálisis para que se lleve a cabo la transferencia de agua y solutos entre la sangre y la solución de diálisis. los elementos básicos de esta técnica son la estructura anatómico-funcional de la membrana peritoneal, las características físico-químicas de la solución de diálisis y el catéter <ul style="list-style-type: none">• Diálisis Peritoneal Automatizada (DPA): Mediante una cicladora (sistema mecánico) se realiza la infusión del dializante en la cavidad abdominal y posterior drenaje. Existen dos variedades: diálisis peritoneal intermitente (DPI), es decir la cavidad peritoneal permanece sin líquidos por periodos; y continua donde siempre existe líquido en su interior.• Diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA): la cavidad peritoneal permanece siempre con líquido y los recambios se realizan de forma manual, varias veces al día.

En México, los censos realizados en diferentes hospitales de segundo nivel del IMSS, en los que se incluyeron pacientes con IRC y tratamiento sustitutivo (DP o HD), en tres diferentes años (2005, 2009 y 2014), se observó que la DP sobresalía sobre la HD como tratamiento de la IRC, sin embargo, en los últimos 5 años se ha visto un incremento en la HD, debido en gran parte a que los pacientes abandonan la DP por complicaciones. (Figura 2) ^{2, 109, 110}.

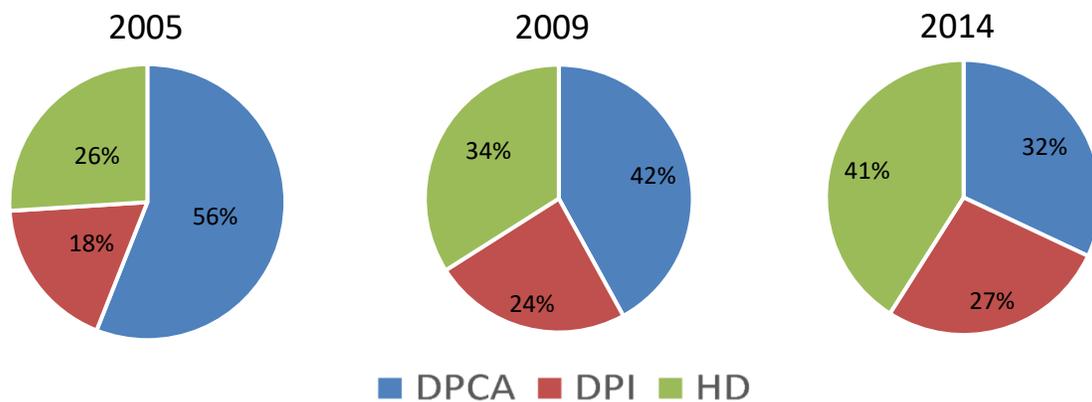


Figura 2. Distribución de pacientes por método de diálisis utilizada en los años 2005: n = 42,000 pacientes; 2009: n = 31.712 pacientes; y 2014: n = 55 101 pacientes. DPCA = Diálisis peritoneal continua ambulatoria; DPI = Diálisis peritoneal intermitente; HD = Hemodiálisis.

1.2 Diálisis Peritoneal Continua Ambulatoria

La DPCA es un procedimiento ampliamente utilizado en los pacientes con IRC, es un método de sustitución de la función renal en el que el peritoneo actúa como membrana de diálisis, permitiendo la transferencia de agua y solutos entre la sangre, y una solución de diálisis. En la Figura 3 se muestra la disposición anatómica del peritoneo o membrana cerosa que reviste el interior de la cavidad abdominal el cual se conforma por dos capas:

- Peritoneo parietal, capa exterior adherida a la pared de la cavidad abdominal;
- Peritoneo visceral, capa interna que envuelve algunos órganos del abdomen.

El espacio entre ambas capas es la cavidad peritoneal y contiene pequeña cantidad de fluido que permite a ambas capas deslizarse entre sí ¹⁰¹.

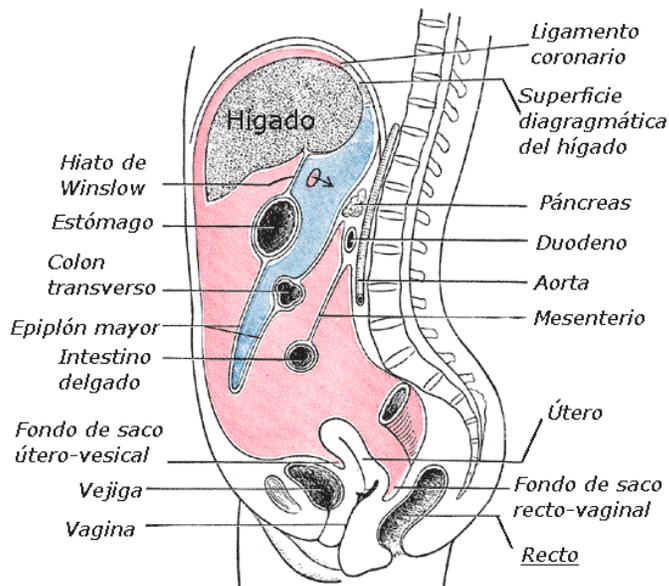


Figura 3. Disposición vertical del peritoneo. Cavidad principal en rojo, bolsa omental en azul. Tomado y modificado de Gray H, et al. 1995 ⁷¹.

El tratamiento con DPCA consiste en la colocación de un catéter en el abdomen, el cual se conecta a un sistema de doble bolsa: de infusión y drenaje. El sistema posibilita el ingreso de líquido de lavado (dializante) en la cavidad abdominal desde la bolsa de infusión, posteriormente se desconecta el catéter del sistema y se tapa, mientras la membrana peritoneal actúa como filtro, permitiendo que el exceso de líquido y residuos de la sangre pasen al dializante, el cual debe permanecer en el abdomen dos o más horas según la complejidad física del paciente y la cantidad de residuos a extraer (Figura 4)

El transporte de desechos se realiza entre la microcirculación y la cavidad peritoneal mediante la combinación de difusión y ultrafiltración, según el transporte de agua y solutos. En el transporte de solutos la difusión es el mecanismo principal y depende de la diferencia entre la concentración plasmática y del líquido de diálisis, el área de superficie de la membrana y el coeficiente de difusión de la membrana. El tamaño y la carga de la molécula influyen directamente en su paso por la membrana semipermeable. A menor peso molecular de una sustancia, su gradiente de difusión por la membrana aumenta. La ultrafiltración permite la eliminación de solutos siguiendo el flujo del líquido ¹⁰¹.

Finalmente, el catéter se conecta al sistema y se abre el segmento de drenaje, mediante el cual el dializado es extraído y colectado en la bolsa de drenaje y se repite el ingreso del líquido (Infusión).

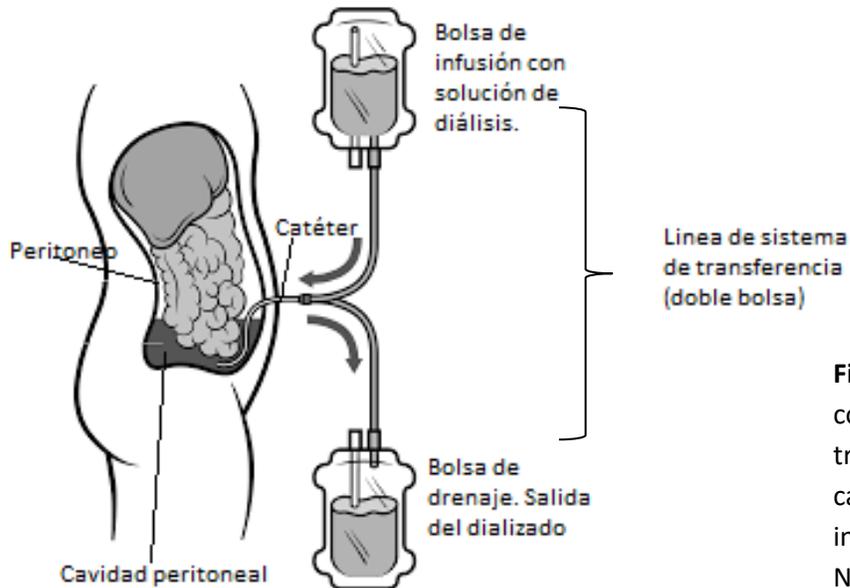


Figura 4. DPCA, catéter conectado a la línea de transferencia para llevar a cabo las fases de drenaje e infusión. Modificado de NKF-DOQI, 2002 ¹¹⁸.

Las ventajas de la DPCA son:

- Permite una mayor ingesta dietética de proteínas, sodio, potasio y líquidos
- Hay menos síntomas de desequilibrio durante la diálisis
- No hay necesidad de anticoagulación y de un sistema de acceso a la circulación sistémica
- Existe mayor libertad de movimiento
- Disminuye la necesidad de transfusiones
- Mejor calidad de vida.

1.2.1 Complicaciones

La principal desventaja de la DPCA es la alta tasa de infecciones (Guías de Práctica Clínica en Diálisis Peritoneal, 2006) ¹⁴⁷. Las complicaciones que se presentan en las dos modalidades de diálisis se describen en el cuadro 5.

Cuadro 5. Complicaciones observadas en las dos modalidades de diálisis ^{109, 116}.

Diálisis peritoneal	Hemodiálisis
Infección de sitio de salida del catéter y peritonitis	Retención hídrica
Sobrecarga hídrica	Descontrol hipertensivo
Complicación mecánica del catéter de diálisis	Hipercalcemia
Infección del túnel del catéter	Enfermedad vascular cerebral
Infecciones respiratorias	Infecciones respiratorias
Desequilibrio hidroelectrolítico	Disfunción del acceso vascular
Cardíacas	Cardíacas

La infección del sitio de salida (SS) del catéter y la peritonitis son las complicaciones más frecuentes secundarias a la técnica de DPCA^{2, 116}. Los factores que comúnmente están asociados son las malas condiciones higiénicas, la microbiota normal del paciente, desinfectantes contaminados o por la contaminación ambiental ⁵⁹.

1.2.1.1 Infección del sitio de salida

En la zona del orificio del catéter de DPCA se produce una respuesta inflamatoria alrededor del orificio caracterizada por eritema, exudado, descamación y dolor. Ocurre en 0.6 a 0.7 de casos de diálisis peritoneal al año y son responsables del 30 al 40 % de las pérdidas de los catéteres¹³⁰; así mismo son causa de alrededor del 20 % de las peritonitis ^{2, 116}. Sin embargo, se ha estimado que la mitad de los pacientes en DPCA no desarrollarán infección del orificio de salida en los primeros 2 años posterior a la colocación del catéter ⁵⁸.

Ante la evidencia de proceso infeccioso en el SS se realiza un frotis con tinción de Gram y cultivo. La detección de leucocitos en el Gram es señal de inflamación secundaria a infección ¹¹⁶.

1.2.1.2 Peritonitis

La peritonitis es de las complicaciones más graves, cuyos mecanismos son contaminación del catéter, infección del SS o del túnel cutáneo del catéter,

traslocación bacteriana gastrointestinal y bacteremia ¹⁶⁴. Este proceso se presenta en el 47.6 % de los casos de infecciones ² y causa de muerte del 5 -7 % de la población sometida a tratamiento con DPCA ^{164, 165}. Más del 25 % de los pacientes con peritonitis recurrente abandonan el programa, por lo que es la principal causa de transferencia a hemodiálisis ².

El diagnóstico se establece por la presencia de dos o más de los siguientes signos y síntomas: inflamación e irritación peritoneal, dolor abdominal difuso, fiebre mayor de 37.5 ° C, náuseas, vómito, diarrea y turbidez del líquido dializado. El análisis del dializado es muy útil para confirmar si el paciente padece peritonitis, se evalúa: apariencia, color, si hay celularidad de leucocitos > 100 cel/mm³ o polimorfonucleares (PMN) > 50 %. Además, se le realiza tinción de gram y cultivo en diferentes medios para la detección de los microorganismos ².

1.2.1.3 Agentes etiológicos

Las bacterias son los agentes etiológicos más frecuentes (70-90 %) causantes de infecciones del SS y de peritonitis, en los pacientes que reciben tratamiento con DPCA, donde aproximadamente 50 - 60 % de los episodios son causados por bacterias gram-positivas y 20 - 30 % por bacterias gram-negativas ².

En las infecciones del SS, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas* spp. son los principales agentes etiológicos, más del 50% de las infecciones son producidas por *S. aureus*, provenientes de los orificios nasales de los individuos portadores asintomáticos ¹¹⁶. En cambio, *Staphylococcus epidermidis* es el principal agente de peritonitis (32 – 35 % de los casos) seguido de *Staphylococcus aureus* (4 – 22 % de los casos) ^{2, 55}.

Las peritonitis fúngicas se presentan en el 3 – 15 % de los episodios ^{93, 104}, son menos frecuentes que las bacterianas, sin embargo, están asociadas con una alta morbilidad, la imposibilidad de continuar en el programa de diálisis y con un importante índice de mortalidad ⁶².

El 70 - 90 % de los casos son causadas por especies del género *Candida* ¹⁰⁴, principalmente *Candida parapsilosis*, seguido por *C. albicans* y *C. tropicalis* ^{66, 159}.

1.3 Aspectos generales de las especies de *Candida*

Las especies de *Candida* son microorganismos aerobios, de forma globosa, ovoide, rectangular y cilíndrica. De tamaño variable entre 3 - 6 µm. Generalmente son unicelulares y algunas forman pseudohifas, estructuras conformadas por la unión de varias células sin separarse de la inicial, o hifas, producidas a partir de una extensión de la célula madre, llamada tubo germinativo, el cual crece de forma apical y forma septos. La mayoría de las especies crecen en medios de cultivo con pH entre 5.5 y 6.5, a 20 - 37 °C ²³.

De acuerdo con diversos autores se han descrito de 150 a 200 especies incluidas en el género *Candida*, de las cuales 20 especies han sido implicadas en infecciones clínicas, donde 4 son las más comunes (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*), la frecuencia varía y depende de la forma clínica y región geográfica ^{19, 23, 48, 120, 139}.

Candida spp. se localizan en diferentes regiones anatómicas del humano formando parte de la microbiota de las mucosas del tracto intestinal (50 a 70 %), boca (30 a 50 %), vagina (5 a 30 %) y de la piel (4 a 7 %). Sin embargo, el personal de salud ha presentado incremento en el número de levaduras en las manos, por ejemplo, en el personal médico 20 % y en el de enfermería hasta 80 % ¹⁵¹.

1.3.1 Especies de *Candida* causantes de infecciones en pacientes

sometidos a DPCA.

En esta sección se describirán las características relevantes de las especies identificadas en este trabajo.

Las infecciones fúngicas asociadas a pacientes sometido a DPCA, principalmente en la peritonitis, alrededor del 10% de los pacientes presentaron peor pronóstico. El 40% de los pacientes con peritonitis fúngica (PF) presentan falla en la técnica y

como consecuencia pasaron a hemodiálisis. La mortalidad es mayor (5-40%), en comparación con las infecciones bacterianas ⁹³.

Los factores predisponentes asociados son: altas concentraciones de glucosa en el dializado, el tratamiento antibiótico prolongado, diabetes mellitus, perforaciones intestinales, tratamiento esteroideo y enfermedades malignas. El factor sobresaliente en 60-70 % de los casos fue el tratamiento previo con antibióticos ¹⁸.

Candida albicans y *C. parapsilosis*, han sido las 2 especies más comunes y relacionadas a PF, debido a su ubicación anatómica como saprobios en el sistema digestivo, genitourinario y en la piel ¹⁸.

1.3.1.1 *Candida parapsilosis*

Candida parapsilosis es un complejo conformado por tres especies: *Candida parapsilosis sensu stricto*, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*, identificadas por técnicas moleculares. Esta especie forma parte de la biota de la piel, uñas de las manos y ocasionalmente de mucosas; se ha relacionado a infecciones adquiridas a través de las manos y de ambientes hospitalarios, aislado de catéter intravascular y de líneas de nutrición parenteral, entre otros dispositivos médicos ^{37, 48, 157}.

En Latinoamérica, esta especie causa infección en todos los rangos de edad, incluyendo neonatos, grupo que es el más afectado en Estados Unidos, Chile y Reino Unido ^{38, 60, 163}. En la última década *C. parapsilosis* se le ha considerado como un importante patógeno emergente, asociado a un amplio espectro de formas clínicas de candidosis ^{157, 163}. Diversos autores han reportado que es la principal especie causante de PF favorecida por el elevado contenido de glucosa del dializado y la implantación del catéter que constituyen importantes factores que predisponen a los pacientes con diálisis peritoneal a peritonitis por *C. parapsilosis*, ya que se adhieren fácilmente a la superficie de los catéteres con extensa formación de biopelículas ^{162, 163}.

1.3.1.2 *Candida albicans*

Esta especie forma parte de la biota de las mucosas del tracto digestivo y genitourinario ^{23, 95, 136}. Desde finales del siglo XIX, *C. albicans* ha sido la principal especie causante de candidosis, tanto superficial como invasiva; a pesar de que, en las dos últimas décadas, la prevalencia de infecciones causadas por especies no *albicans* ha aumentado, independientemente del entorno clínico y la ubicación geográfica ^{1, 98}.

Candida albicans se ha considerado clásicamente la especie predominante causante de PF en pacientes tratados con DPCA, aunque en los últimos años *C. parapsilosis* ha sido implicado en ocasiones en igual o mayor proporción ⁶². En países como Argentina, Reino Unido, *C. albicans* ocupa el primer lugar como agente causal de PF asociada a DPCA en el 40 – 60 % de los casos ^{47, 137}.

1.3.1.3 *Candida tropicalis*

Especie considerada agente etiológico importante de candidosis invasiva en pacientes hospitalizados en las unidades de cuidados intensivos, principalmente en los que requieren cateterismo prolongado, que reciben antibióticos de amplio espectro o con cáncer especialmente con leucemia, neutropenia y en trasplante de células madre ^{48, 84}.

En la última década *C. tropicalis* está entre las tres especies más frecuentemente aisladas de pacientes con PF asociada a DPCA, junto a *C. albicans* y *C. parapsilosis*. En México, EUA, Canadá y en algunos países europeos, como Grecia y Eslovenia se han relacionado en el 10 - 11 % de las PF ^{15, 20, 66, 86, 104}. Incluso existe reporte de brote de PF por *C. tropicalis* en pacientes con DPI en un hospital general de Hong Kong ¹⁷².

1.3.1.4 *Candida lusitanae*

Las publicaciones en las bases de datos han relacionado a *C. lusitanae* como causante de diferentes formas clínicas como septicemia, endocarditis valvular

protésica y en pacientes inmunocomprometidos. *Candida lusitanae* se confunde con *C. parapsilosis*, *Saccharomyces cerevisiae*; sin embargo, puede diferenciarse por pruebas bioquímicas, ya que *C. lusitanae* asimila y fermenta la celobiolsa^{36, 73}.

Candida lusitanae es un patógeno emergente de fungemias y otras formas clínicas. Merz¹¹⁴, reportó que esta especie representa menos del 1 % de los aislamientos de diferentes especímenes. En el 86 % de los pacientes, los hemocultivos son positivos. La mortalidad se ha reportado en el 78 % de los pacientes con infecciones por esta especie. Raramente se ha asociado con peritonitis; solo hay cinco informes de casos de peritonitis por *C. lusitanae* en pacientes tratados con DPCA^{20, 36, 64, 73}.

1.3.1.5 *Candida pelliculosa*

Es una levadura encontrada con frecuencia en varias frutas, exudados de árboles, suelo, vegetales y otros compuestos orgánicos. Algunos autores han descrito casos clínicos de fungemia nosocomial en pacientes inmunocomprometidos⁸⁵.

Es una especie que debería agregarse a la lista de hongos patógenos que son cada vez más importantes no solo en pacientes con enfermedad inmunosupresora subyacente, sino también en pacientes con enfermedad quirúrgica grave. La mayoría de los casos en los que ha sido aislado este agente están relacionados con la presencia de catéteres venosos centrales y periféricos¹¹, ocasionalmente existen reportes de peritonitis causada por *C. pelliculosa*, sin embargo, no se tienen datos de aislamientos a partir de pacientes con peritonitis relacionada a DPCA, solo aislamientos de casos de candidemias²¹.

1.3.2 Factores de virulencia de las especies de *Candida*

El oportunismo de los microorganismos se ve favorecido si el huésped presenta uno o varios factores de riesgo, como el uso de antibióticos de amplio espectro, esteroides, citotóxicos, etc., así como la presencia de enfermedades hematológicas, metabólicas como la diabetes mellitus, con inmunodeficiencias primarias o adquiridas, trasplantes, con cateterismo o nutrición parenteral etc.³⁰. Estos factores asociados al hospedero no son suficientes para que la enfermedad se establezca;

si no que la colonización puede llevar al desarrollo del hongo, gracias a los factores de virulencia que posee. Estos factores son mecanismos y/o moléculas producidas por el hongo, expresados durante el establecimiento de la infección, que lo favorecen para evadir al sistema inmune y diseminarse en el hospedero ¹⁶².

Candida albicans es la especie que más ha sido estudiada, se ha descrito que es capaz de colonizar el huésped, ocasiona daño de forma directa, al activar, resistir o desviar los mecanismos de defensa del mismo; sus principales factores de virulencia son: dimorfismo, cambio de fenotipo, expresión diferencial de genes en respuesta al ambiente, síntesis de adhesinas, secreción enzimática y su capacidad para formar biopelículas (cuadro 6) ^{24, 170}.

Cuadro 6. Factores de Virulencia de *Candida albicans*

Factor de virulencia	Definición	Descripción	Referencia
Dimorfismo	Capacidad de existir en dos formas morfológicas: blastoconidios y pseudohifas o hifas.	La forma de levadura es útil para facilitar la diseminación del hongo en el torrente sanguíneo al adherirse de forma significativa a las células endoteliales, mientras que la hifa es responsable de la invasión celular.	(Staniszewska M, <i>et al.</i> 2012) (Jacobsen ID, <i>et al.</i> 2012) (Lim CSY, <i>et al.</i> 2012)
Cambio fenotípico	Fenómeno de inestabilidad fenotípica específica que permite a la levadura cambiar su expresión fenotípica.	<ul style="list-style-type: none"> • Formación de colonias rugosas mediante la aplicación de luz UV a baja frecuencia; y reversión del fenotipo a colonias cremosas con la aplicación de una frecuencia mayor. • Cambio de colonias blancas, lisas, con células ovoides o redondas a colonias planas, grises y opacas, con células alargadas. La expresión de genes en cada fenotipo varía, SAP2, EFG1 y WH11 son específicos del fenotipo blanco, así como SAP1 Y SAP3 del fenotipo gris. 	(Treviño-Rangel RJ, <i>et al.</i> 2012) (Yang Yun, 2003) (Calderone <i>et al.</i> 2001)
Síntesis de adhesinas	Síntesis de biomoléculas que participan en la adherencia o anclaje de <i>Candida</i> a las células del hospedero o a otras superficies. Algunas adhesinas de importancia son las proteínas de secuencia tipo aglutinina (ALS), la proteína 1 de la pared de la hifa (Hwp1), la de adherencia aumentada a poliestireno (Eap1).	<p>ALS: Median la unión a diversos sustratos del hospedero, por ejemplo, ALS 1, 3 (expresadas en las hifas) y 5 promueven la unión a células epiteliales orales.</p> <p>Hwp1: Se expresa en las hifas, facilita su adherencia a las células epiteliales orales.</p> <p>Eap1: interviene en la unión a poliestireno; Mp65 es una proteína que favorece la adherencia al plástico.</p>	(Castrillon R, <i>et al.</i> 2005) (Lim CSY, <i>et al.</i> 2012) (Calderone <i>et al.</i> 2001)
Secreción enzimática	Síntesis y secreción de enzimas degradativas; existen dos grandes familias: las aspartil proteinasas (SAPs) y las fosfolipasas (PL).	<p>SAPs: se han descrito 10 tipos (SAP1 – SA10); hidrolizan proteínas del hospedero (colágeno, laminina, fibronectina, mucina, lactoferrina e inmunoglobulinas).</p> <p>PL: se han identificado aquellas codificadas por PLA, PLB, PLC y PLD, siendo PLB1 necesaria para la virulencia e invasión, hidroliza las uniones de éster de glicerofosfolípidos de la membrana celular del hospedero.</p>	(Naglik J, <i>et al.</i> 2004) (De la Calle RN, <i>et al.</i> 2012)

1.4 Biopelículas

Los microorganismos en la naturaleza desarrollan biopelículas como estrategia de supervivencia y tolerancia al microambiente; es la forma que predomina más que la forma planctónica. Las biopelículas son comunidades microbianas adheridas a una superficie y cubiertas por una sustancia polimérica extracelular (SPE) autoproducida y muestran un fenotipo diferente al de las células planctónicas^{51, 53}. La expresión de genes también cambia durante este proceso, Chandra *et al.*³², observaron que el perfil de expresión de genes en *C. albicans* pertenecientes a la familia ALS, que codifican proteínas implicadas en su adhesión, mostró una expresión diferencial con genes adicionales en la biopelícula.

La formación de biopelículas en la superficie de los catéteres está asociada con diferentes manifestaciones clínicas de infecciones producidas por *Candida spp.*, ya que son superficies adecuadas para la adhesión y el posterior anclaje de las biopelículas; estas estructuras causan la falla del catéter y en el tratamiento antifúngico, debido a la mayor resistencia al fármaco y disminución en la respuesta inmune del hospedero^{98, 140}.

Diversos autores han estudiado la capacidad de formar biopelículas por las diferentes especies de *Candida*. En *C. albicans* se ha demostrado la alta capacidad para formar biopelículas, seguida de *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*^{50, 173}. Otros autores han considerado que existe variación en la capacidad de formación de biopelículas, de tal manera que *C. tropicalis* ha sido la mayor productora¹⁰⁸.

1.4.1 Componentes de las biopelículas

Las biopelículas son estructuras heterogéneas, las cuales constan de 3 componentes^{32, 51}:

- 1) Superficie:** es el sustrato donde se anclarán las células y puede inducir el desarrollo de una u otra forma morfológica de la levadura (blastoconidio / hifa)^{32, 53}.
- 2) Microorganismos:** el desarrollo de la biopelícula depende de los mecanismos, y factores de virulencia de los microorganismos que la forman. Un ejemplo que

demuestra este hecho es el dimorfismo de *C. albicans*, el cual es un evento crítico para la formación exitosa de la biopelícula; aunque no es un requisito absoluto, ya que los conidios y las hifas son formas morfológicas por separado capaces de generarlas, sin embargo, podría ser necesario para el desarrollo de la estructura fuertemente organizada ^{32, 53}. Esto fue demostrado por Baillie GS, *et al*; compararon las biopelículas formadas por cepas de *C. albicans* de tipo salvaje con las formadas por dos mutantes morfológicos: uno incapaz de crecer como levaduras (levadura-negativa) y otro incapaz de desarrollar hifas (hifa-negativa)¹⁰. La estructura general de las biopelículas de *C. albicans* de tipo salvaje consistían en dos capas: una región delgada y basal de levaduras densamente empaquetadas y una capa de hifas más gruesa. El mutante hifa-negativo produjo solo la capa basal de levaduras, mientras que el mutante levadura-negativa formó una película de hifas.

Las biopelículas del mutante levadura-negativa se dispersaron más fácilmente que las otras cepas, lo que indica que la capa basal de levadura tiene una función importante en el anclaje de la biopelícula a la superficie¹⁰.

Además, puede haber interacciones de más de dos microorganismos; se ha demostrado el antagonismo entre bacterias y hongos dentro de una biopelícula en las que se ha observado una amplia variedad de moléculas secretadas que participan en la modulación de la composición de la biopelícula ⁵³.

- 3) Sustancia polimérica extracelular:** La SPE es uno de los componentes más distintivos de una biopelícula microbiana, se ha sugerido que corresponde al 75 – 80 % de la masa de la biopelícula; su composición varía según los microorganismos presentes, por ejemplo, en *C. albicans*, el azúcar principal es la glucosa y en *C. tropicalis* es hexosamina ²⁹; así como de factores ambientales. Las macromoléculas que forman parte de la SPE de *C. albicans*, incluyen proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos (Cuadro 7).

Cuadro 7. Componentes de la sustancia polimérica extracelular de *Candida albicans*.

Macromolécula		Referencia
Proteínas	Enzimas	(Al-Fattani MA, y Douglas LJ, 2006) (Zarnowski et al. 2014)
Carbohidratos	Monosacáridos: Arabinosa, manosa, glucosa y xilosa. Polisacáridos: β -1,3 glucano, β -1,6 glucano, α -1,6 mananas.	(Nett J, et al. 2007) (Douglas LJ, 2003) (Zarnowski et al. 2014)
Lípidos	Glicerolípidos: ácidos grasos libres (ácido oleico, ácido linoleico, ácido palmítico, ácido esteárico, ácido palmitoleico, ácido mirístico), triacilgliceroles y fosfatidiletanolaminas. Esfingolípidos Ergosterol	(Zarnowski et al. 2014) (Douglas LJ, 2003)
Ácidos nucleicos	ADN extracelular: Secuencias aleatorias no codificantes.	(Douglas LJ, 2003) (Zarnowski et al. 2014)

Cada uno de los componentes de las SPE juega un papel en la biopelícula. Se ha demostrado el papel de algunas en la adhesión a superficies, integridad estructural, protección contra amenazas externas, señalización y activación enzimática; el más relevante es la resistencia a antifúngicos, la cual se ha relacionado con la unión del fármaco a los componentes de la matriz. Para *C. albicans*, se ha demostrado que tanto el polisacárido de matriz, β -1,3 glucano, como el ADN extracelular contribuyen al mecanismo de resistencia a los fármacos, el β -1,3 glucano se correlaciona con la capacidad de la matriz para evitar su penetración; aunque no se ha confirmado una unión entre estos, hay datos que respaldan una interacción física o secuestro del antifúngico^{32, 119, 174}.

1.4.2 Formación y desarrollo de biopelículas

De las especies más estudiadas sobre la formación de biopelículas ha sido *C. albicans*, donde se ha evidenciado que el proceso se lleva a cabo de manera organizada, continua y se desarrolla en cuatro fases (Figura 5)^{29, 32, 108}.

1) Adhesión: Los blastoconidios de *C. albicans*, al detectar las condiciones favorables, inician el contacto con la superficie (90 minutos)³².

- 2) Agregación y síntesis de SPE:** Los blastoconidios adheridos comienzan una etapa de crecimiento exponencial, seguido de la formación de tubos germinales y formación de microcolonias (11 a 30h); debido a la agregación se observan más gruesas. Al mismo tiempo, aumenta el número de señales locales que inducen la activación de genes involucrados en la producción de la SPE ^{29, 32, 51}.
- 3) Maduración:** En *C. albicans* a las 38 a 72 h se observa una densa red de levaduras, hifas y/o pseudohifas, recubiertas por SPE, fenómeno que hace alusión a las comunidades microbianas complejas, con heterogeneidad estructural y funcional ³².
- 4) Dispersión:** A medida que la biopelícula envejece, las células adheridas, deben separarse y dispersarse de la biopelícula, para sobrevivir y colonizar nuevas superficies. Las células hijas son las que principalmente se desprenden. El proceso ocurre de manera discreta como resultado de factores como: los niveles de nutrientes, por eliminación continua de pequeñas porciones de la biopelícula debido a los efectos de flujo, la presencia de sustancias químicas en el ambiente, o por las propiedades superficiales de las células y/o del sustrato ^{51, 92}.

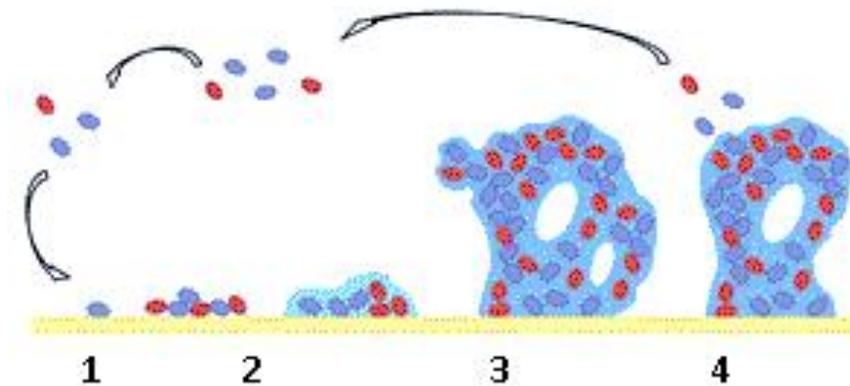


Figura 5. Fases de la formación de una biopelícula. 1) Adhesión 2) Agregación 3) Maduración 4) Dispersión. Tomado y modificado de Dirckx Peg y Davies David, 2003. Center for Biofilm Engineering Montana State University.

La mayoría de las especies de *Candida* spp. causantes de infección son capaces de formar biopelículas, estas incluyen a *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* y *C. krusei*. Las características de las biopelículas formadas por las especies de *Candida no albicans* incluidas en este estudio se resumen en el cuadro 8 ⁸⁸.

Cuadro 8. Características de las biopelículas formadas por algunas especies de <i>Candida</i>.			
Especie	Descripción general	Componentes de la SPE	Referencia
<i>C. parapsilosis</i>	En general, las tres especies del complejo son capaces de producirlas. Siendo su topografía de superficie muy similares entre sí y conformada por conglomerados de blastoconidios dispuestos irregularmente. Genera cuantitativamente menos biopelícula y de menor complejidad que <i>C. albicans</i> .	Altas cantidades de carbohidratos y pequeñas cantidades de proteínas.	(Treviño-Rangel RJ, <i>et al.</i> 2012) (Kojic EM. y Darouiche RO. 2004) (Kuhn MD, <i>et al.</i> 2002)
<i>C. tropicalis</i>	En las últimas dos décadas se publicaron algunos artículos sobre la capacidad con alto potencial de formación de biopelículas por esta especie. La biopelícula madura consiste en una densa red heterogénea de levadura, pseudohifas e hifas.	Principalmente hexosamina (27.4%), con cantidades más pequeñas de carbohidratos (3.3%, incluyendo 0.5% de glucosa) y proteínas (3.3%).	(Al-Fattani M, y Douglas L. 2006) (Bizerra FC, <i>et al.</i> 2008) (Kuhn MD, <i>et al.</i> 2002)
<i>C. lusitaniae</i>	Recientemente se ha demostrado que tiene un alto potencial para formación de biopelículas; estructuralmente son de menor complejidad que las de <i>C. albicans</i> , con una menor densidad. Además, se ha comprobado el aumento en las CMI a agentes antifúngicos (Caspofungina, micafungina anidulafungina) en comparación con las células en estado planctónico.	No han sido descritos	(Simitsopoulou M, <i>et al.</i> 2013) (Pannanusorn S, <i>et al.</i> 2013)
<i>C. pelliculosa</i>	Los estudios sobre <i>C. pelliculosa</i> son escasos; se ha observado que si es capaz de formar biopelículas, incluso ha sido clasificada como fuerte formadora.	No han sido descritos	(Pannanusorn S, <i>et al.</i> 2013)

1.5 Diagnóstico y métodos para la identificación de *Candida* spp.

El diagnóstico de candidosis se basa en la identificación de la especie causal. Inicialmente la muestra es recolectada asépticamente; la recolección y transporte varía de acuerdo con el espécimen, cada uno debe estar bien rotulado con los datos del paciente.

Para aumentar la probabilidad de observación y aislamiento de las levaduras, se utiliza centrifugación de las muestras de material líquido, con la finalidad de concentrar las células.

La identificación de las levaduras se realiza por métodos.

- Fenotípicos: por los criterios morfológicos., enzimáticos y bioquímicos^{12, 23, 157, 162}.
- Genotípico: Por la reacción en cadena de polimerasa (PCR), PCR-RFLP y secuenciación ^{160, 171}.
- Inmunológicos.

Para fines de este trabajo, solo se describirán los criterios para la identificación fenotípica.

1.5.1 Identificación fenotípica

1.5.1.1 Criterios morfológicos macroscópicos

Los parámetros a considerar son el aspecto de las colonias en agar dextrosa Sabouraud (ADS) (BD Bioxon), a 28 - 35 °C, después de 48 a 72 horas. En general las especies de *Candida* crecen fácilmente en medios de cultivo usados rutinariamente en el laboratorio microbiológico (agar sangre y agar chocolate), los cuales son medios de aislamiento primario por excelencia. En ADS, las colonias suelen ser limitadas, ligeramente elevadas o planas, de consistencia cremosa, opacas, lisas y rugosas (Figura 6), de color blanco^{12, 23}. En algunas especies se observa un margen filamentosos como en *C. tropicalis* y *C. albicans*.

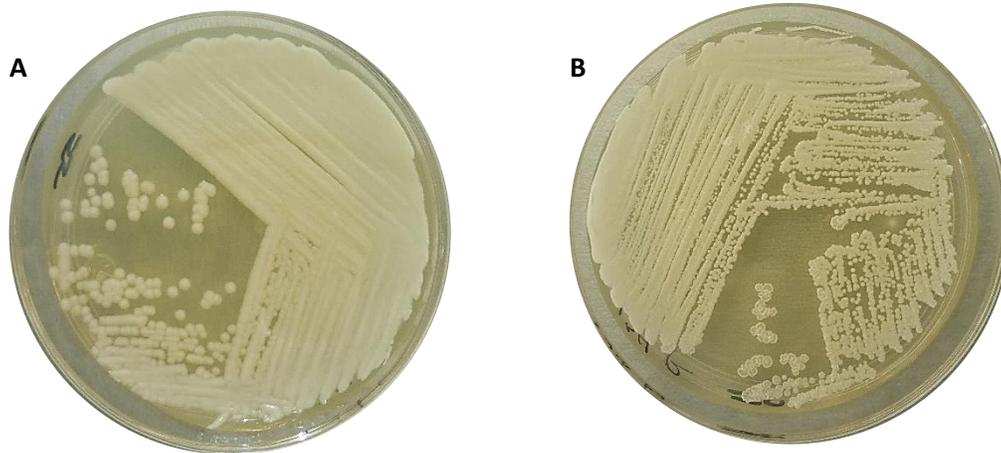


Figura 6. Aspecto de las colonias de especies de *Candida* en ADS. A) *Candida albicans* (colonias lisas); B) *Candida parapsilosis* (morfotipo rugoso).

1.5.1.2 Criterios morfológicos microscópicos

Todas las especies de *Candida* se reproducen por blastoconidios; el tamaño de los conidios fluctúa entre 2 a 10 μm de diámetro. La forma puede ser globosa, ovoide y cilíndrica. Con la formación de hifas y/o pseudohifas (Figura 7) a excepción de *C. glabrata*²³.



Figura 7. Pseudohifas de *Candida parapsilosis* en examen directo con azul de algodón, de crecimiento de 72 h en agar fécula de papa-zanahoria-Tween 80 al 1%.

La formación de tubo germinativo es una extensión tubular de la célula madre de aproximadamente 5 a 15 μm de largo, sin estrechamiento en su origen, cuyo ancho suele ser la mitad de la célula progenitora y su longitud tres o cuatro veces mayor que la célula madre (Figura 8). Sólo *C. albicans* y *C. dubliniensis* son capaces de producir tubos germinativos, sin embargo, otras especies como *C. tropicalis* pueden producir pseudohifas precoces de aspecto similar a los tubos germinales, pero con una zona de constricción característica ^{58, 94, 107}.

La prueba se realiza en suero humano o sueros con glucosa, glucosamina o sales de amonio. Se incuban a 37° C durante 2 h. El agar Mueller-Hinton es otro medio útil para la formación de tubo germinativo con una sensibilidad superior al 90% y una especificidad del 100 % ^{102, 106}. Para algunos autores es una prueba diferencial entre *C. albicans* y *C. dubliniensis* de las demás especies ¹⁰⁶.



Figura 8. Producción de tubo germinativo por *Candida albicans*.

La formación de pseudohifas, hifas y clamidoconidios constituye una característica morfológica de gran importancia para la identificación de algunas especies de levaduras. La prueba se lleva a cabo en medios con bajo contenido de nutrientes,

como agar-harina de maíz, agar harina de arroz o agar papa-zanahoria adicionados con un tensoactivo (Tween 80 al 1 %), inoculados por el método de Dalmau¹⁰⁷.

En el cuadro 9 se resumen las diferentes estructuras que presentan las especies que fueron aisladas en este estudio. Todas las especies de *Candida* presentan pseudohifas, con cúmulos de blastoconidios en las constricciones, con excepción de *C. glabrata*. En *C. albicans* se observan hifas y clamidoconidios, terminales o intercalares, sobre una hifa larga, que miden entre 10 y 12 µm de diámetro, con membrana gruesa y en *C. dubliniensis* clamidoconidios abundantes, en racimos y sobre una hifa corta ^{28, 103}.

Cuadro 9. Características morfológicas microscópicas de algunas especies de *Candida* ^{28, 75, 151, 162}.

Especie	Tubo germinativo	Hifas o pseudohifas	Clamidoconidios
<i>C. parapsilosis</i>	Negativo	Pseudohifas	Negativo
<i>C. albicans</i>	Positivo	Hifas	Positivo
<i>C. tropicalis</i>	Negativo	Pseudohifas/hifas	Negativo
<i>C. pelliculosa</i>	Negativo	Pseudohifas	Negativo
<i>C. lusitaniae</i>	Negativo	Pseudohifas	Negativo

1.5.1.3 Identificación por pruebas bioquímicas

Estas pruebas se basan en la actividad metabólica y enzimática de las levaduras, ya que son organismos que degradan los nutrientes del medio exterior. Los estudios de evaluación sobre sustratos específicos han permitido definir el patrón metabólico que puede presentar una determinada especie, por ejemplo, *C. lusitaniae* puede ser identificada erróneamente como *C. parapsilosis* o *Sacharomyces cerevisiae*, sin embargo, puede diferenciarse por pruebas bioquímicas, ya que *C. lusitaniae* asimila y fermenta la celobiosa ⁷³.

Auxanograma: Basado en la asimilación aerobia de diferentes sustratos (carbohidratos), la cual se detecta por el crecimiento visible y/o cambio del indicador de color en el medio de cultivo. En la actualidad se han desarrollado diversos métodos comerciales como el Índice analítico de perfil (API), sistema API® 20 c

AUX (BioMérieux) que es una galería que proporciona un perfil bioquímico de las levaduras a evaluar, basado en la asimilación de 19 sustratos colocados por separado en pozos que se inoculan con la levadura, la cual se reproduce solo si es capaz de utilizar el sustrato correspondiente después de 48 - 72 h de incubación a 30° C (Figura 9)^{9, 22}.

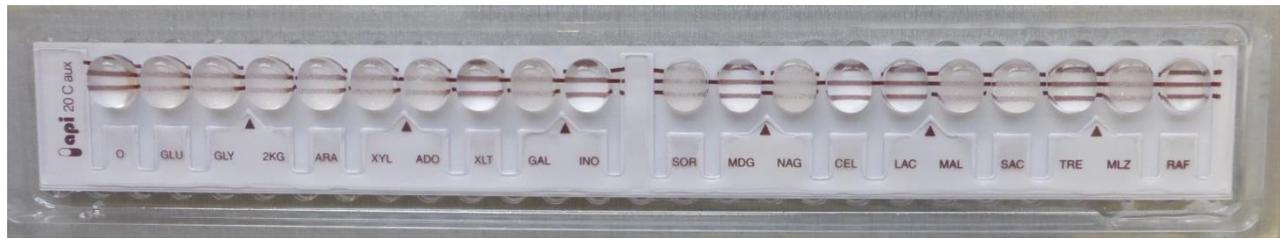


Figura 9. Identificación mediante sistema API® 20 C AUX (BioMérieux), correspondiente a *Candida parapsilosis* (106TS) (código 6656175 id = 99.9 %).

El sistema Vitek® 2 (bioMerieux, Inc.), es un instrumento automatizado que integra: la preparación de la muestra, incubación, lectura óptica y el estuche para la prueba, o tarjeta, que contiene 47 pruebas bioquímicas fluorescentes, las cuales incluyen asimilación de carbohidratos, ácidos orgánicos, detección de oxidasas y arilamidasa. Una vez que se prepara y estandariza el inóculo, el sistema lleva a cabo todas las tareas necesarias para completar la identificación y las pruebas de sensibilidad a algunos antifúngicos en aproximadamente 18 h¹⁶⁶.

Diversos estudios han demostrado que se trata de un método confiable, simple y efectivo para la identificación de las principales especies de *Candida*, con una concordancia del 98.3 % en comparación con otros equipos: API® 20C AUX o API® ID 32C^{67, 121}.

Otros parámetros útiles para diferenciar las especies son el crecimiento en ADS adicionado con cicloheximida y cloranfenicol (ADS-A); permite distinguir a especies de *Candida*, de acuerdo a su sensibilidad-resistencia a la cicloheximida. Y los medios de cultivo diferenciales disponibles comercialmente (CHROMagar *Candida*® (Francia, Becton Dickinson)), los cuales están basados en la actividad

enzimática, debido que se les ha adicionado sustratos cromogénicos. Con este medio se pueden identificar presuntivamente 3 de las especies, basada en la coloración de las colonias después de 24 – 48 h de incubación a 37° C. El fundamento es la reacción entre un sustrato cromógeno (puesto en el medio) y enzimas secretadas por las levaduras (hexosaminasa y fosfatasa alcalina) ^{79, 161}. De esta forma se identifican solo por el color a *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* ¹³, sin embargo, se han hecho estudios usando la guía de colores de Pantone®, en los que se ha determinado el color o colores de algunas especies con una clave específica ^{122, 129}. Sin embargo, muchos autores resaltan la importancia de complementar esta identificación con otras pruebas que permitan la confirmación de la especie (Cuadro 10) ^{100, 175}.

Cuadro 10. Características de algunas especies de *Candida*: sensibilidad-resistencia a cicloheximida y color en CHROMagar Candida®.

Especie	Sensibilidad-resistencia a cicloheximida ^{12, 112}	CHROMagar® Candida ^{65, 122, 129, 151}	
		Color de las colonias	Clave del color de la guía de colores Pantone®
<i>C. albicans</i>	Resistente	Verde esmeralda	3258 / 338
<i>C. parapsilosis</i>	Sensible	Blanco / Rosa-pálido	434 / 435
<i>C. tropicalis</i>	Resistente	Azul oscuro-grisáceo / metálico	548 / 549
<i>C. pelliculosa</i>	Sensible	Rosa / lila	434
<i>C. lusitaniae</i>	Sensible	Rosa / lila	5135 / 5155

1.6 Tratamiento de las complicaciones de la DPCA en pacientes con IRC

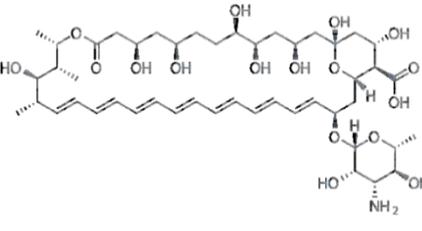
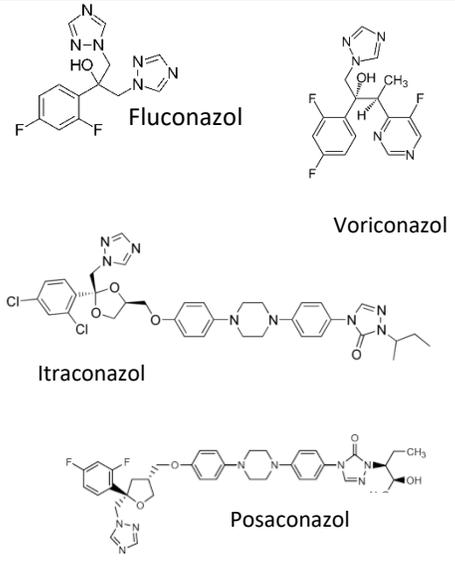
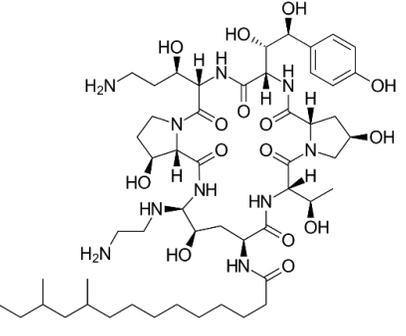
Generalmente, en las infecciones del SS y en la peritonitis se administran antibacterianos de amplio espectro. Las infecciones peritoneales comúnmente son recurrentes y los microorganismos causantes han creado resistencia al tratamiento, el cual debe prolongarse hasta por 4 semanas. Las Guías de la Sociedad Internacional de Diálisis Peritoneal recomiendan retirar el catéter en todos los pacientes en quienes no se observe mejoría en los primeros 5 días del tratamiento ^{116, 130}. Por otro lado, en la última década la Sociedad Española de Nefrología

recomienda retirar el catéter peritoneal junto con la administración de antifúngicos
66.

El tratamiento para la etiología fúngica se inicia hasta la evidencia del hongo causante de la infección; independientemente que se detectan estructuras parasitarias fúngicas en el frotis teñido con Gram.

En México, los antifúngicos en el tratamiento de las infecciones fúngicas, así como la clasificación y mecanismo de acción se muestran en el cuadro 11.

Cuadro 11. Mecanismo de acción y clasificación de antifúngicos usados en el tratamiento de peritonitis fúngica ^{44, 146}.

Clase	Antifúngico	Estructura química	Mecanismo de acción
Polienos	Anfotericina B liposomal Anfotericina B complejo lipídico		Los polienos se unen al ergosterol, componente de la membrana fúngica. Esta unión genera la formación de poros en la membrana alterando su permeabilidad.
Triazoles de primera y segunda generación	Fluconazol Itraconazol Voriconazol Posaconazol	 <p>Fluconazol</p> <p>Voriconazol</p> <p>Itraconazol</p> <p>Posaconazol</p>	Inhibición de la síntesis de ergosterol al interactuar con la 14 α -desmetilasa.
Equinocandinas	Caspofungina		A nivel de la pared inhibiendo la enzima 1,3- β D-glucano sintetasa, bloqueando la síntesis de 1,3- β -D-glucano.

Otros factores que influyen en el tratamiento de las peritonitis fúngicas (PF) es la formación de biopelículas en la superficie del catéter disminuyendo la penetración

de los antifúngicos, de modo que los casos en los que se da tratamiento con estos fármacos como primera medida, generalmente resulta fallido y como consecuencia se presentan recidivas antes de retirar el catéter ^{18, 66, 144}.

1.7 Pruebas de sensibilidad antifúngica

Ante la evidencia de que los pacientes con infecciones fúngicas asociadas a tratamiento de la IRC con DPCA presentan un mal pronóstico y altas tasas de mortalidad, principalmente por el fracaso de las terapias antifúngicas, que usualmente se debe a la aparición de resistencia microbiana cambiando la epidemiología de las infecciones por hongos. Aunado a la disponibilidad de nuevos antifúngicos que ha brindado a los médicos más opciones, aumentando el uso de estos compuestos como tratamiento o profilaxis, empírico o preventivo ⁴.

El uso de las pruebas de sensibilidad antifúngica se ha convertido en herramientas esenciales para contar con una guía en el tratamiento oportuno de las infecciones fúngicas ¹⁴⁹.

Durante las dos últimas décadas, las pruebas de sensibilidad antifúngica de levaduras han incrementado su uso por la estandarización desarrollada por instituciones internacionales: el Instituto de Estandarización de Laboratorios Clínicos (CLSI, por sus siglas en inglés) y el Comité Europeo de pruebas de Sensibilidad Antimicrobiana (EUCAST, por sus siglas en inglés). Las diferentes técnicas se basan en los documentos M27-A3 y suplemento S4 del CLSI y documento 7.1 de EUCAST ^{27, 39}.

Método de microdilución en caldo

Este método se ha considerado como el estándar de oro o técnica de referencia del CLSI. Está indicado para valorar el perfil de sensibilidad a diferentes antifúngicos sobre las especies de *Candida*. Es un método cuantitativo, que consiste en la preparación de placas de microdilución de 96 pozos, en las cuales se distribuyen por columnas las diferentes concentraciones de los antifúngicos, para posteriormente ser inoculadas por filas las levaduras específicas ³⁹.

Los resultados obtenidos por los métodos descritos por el CLSI y EUCAST han demostrado ser comparables y con una elevada reproducibilidad, independientemente de las diferencias (Cuadro 12) ⁴⁵. Ambas instituciones han desarrollado puntos de corte, para definir la resistencia o sensibilidad. En el cuadro 13 se muestran los puntos de corte específicos de *Candida* spp. publicados en el 2012 por el subcomité del CLSI en el suplemento M27-S4 ^{40, 132, 133, 149}.

Cuadro 12. Diferencias entre el CLSI y EUCAST para la realización de pruebas de sensibilidad antifúngica en levaduras por microdilución en caldo ^{4, 26, 39}.

	CLSI M27-A3	EUCAST 7.1
Fondo de la placa	Redonda	Plana
Medio	RPMI 1640 con glucosa al 0.2 %	RPMI 1640 con glucosa al 2.0 %
pH	7 ± 0.1	7 ± 0.1
Concentración del inóculo	(1 x 10 ⁶ – 5 x 10 ⁶) UFC/mL	(1 x 10 ⁵ – 5 x 10 ⁵) UFC/mL
Concentración de antifúngicos	- Fluconazol: (0.125 – 64) µg /mL - Anfotericina B, itraconazol, voriconazol, posaconazol y caspofungina: (0.03 – 16) µg/mL	- Anfotericina B: (0.03 – 16) µg/mL - Fluconazol: (0.125 – 64) µg /mL - Itraconazol y voriconazol: (0.015 – 8.0) µg/mL
Condiciones de incubación	- Caspofungina: 24 h - Anfotericina B, fluconazol: 24 – 48 h - Itraconazol, voriconazol, posaconazol: 48 h Todas a 35°C	24 h a (35 – 37) °C
Lectura	Visual	Espectrofotométrica a 405 nm
Lectura de CMI	- Fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol, caspofungina: 50% de reducción en la turbidez comparada con la del control de crecimiento - Anfotericina B: ausencia de turbidez	- Fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol, caspofungina: 50% de reducción en la turbidez comparada con la del control de crecimiento - Anfotericina B: ≤ 90 % de reducción en la turbidez comparada con la del control de crecimiento
Cepas control de calidad	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019 <i>C. krusei</i> ATCC 6258	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019 <i>C. krusei</i> ATCC 6258

Cuadro 13. Puntos de CMI ($\mu\text{g} / \text{mL}$) del documento CLSI M27-S4^{40, 149, 126}.

Especies de <i>Candida</i>	Antifúngico	Punto de corte M27-S4		
		S	SDD	R
<i>C. albicans</i>	FLZ	≤ 2.0	4.0	≥ 8
	VRZ	≤ 0.12	0.25 - 0.5	≥ 1.0
	CSF	≤ 0.25	0.5	≥ 1.0
<i>C. glabrata</i>	FLZ	--	≤ 32	≥ 64
	VRZ	--	--	--
	CSF	≤ 0.12	0.25	≥ 0.5
<i>C. krusei</i>	FLZ	--	--	--
	VRZ	≤ 0.5	1.0	≥ 2.0
	CSF	≤ 0.25	0.5	≥ 1.0
<i>C. parapsilosis</i>	FLZ	≤ 2.0	4.0	≥ 8.0
	VRZ	≤ 0.12	0.25 - 0.5	≥ 1.0
	CSF	≤ 2.0	4.0	≥ 8.0
<i>C. tropicalis</i>	FLZ	≤ 2.0	4.0	≥ 8.0
	VRZ	≤ 0.12	0.25 - 0.5	≥ 1.0
	CSF	≤ 0.25	0.5	≥ 1.0
<i>C. guilliermondii</i>	CSF	≤ 2.0	4.0	≥ 8.0

FLZ = Fluconazol; VRZ = Voriconazol; CSF = Caspofungina; S = Sensible; SDD = Sensible a dosis dependiente; R = Resistente.

Otros métodos

- Método de difusión en disco (documento M44-A): es un método cualitativo basado en función del halo de inhibición del crecimiento de la levadura, producido por la difusión del antifúngico en el medio de cultivo sólido. De las limitaciones descritas, están la mala difusión de los antifúngicos en el agar, la correlación limitada con la clínica y que solo está estandarizado para dos antifúngicos (fluconazol y voriconazol)²⁶.
- Comerciales: Dos métodos comerciales que presentan buena correlación con los métodos de referencia son E-test®, Sensititre® y Vitek2®. Estos pueden ser manuales, semiautomáticos y automatizados, fácilmente integrables y son métodos alternativos rentables para probar los agentes antifúngicos *in vitro* contra *Candida*, *Cryptococcus* y hongos filamentosos en laboratorios clínicos, ya que evalúan el perfil de sensibilidad en menor tiempo, pero con incremento en su costo.

El método ϵ -test® (AB BioDisk, Solna, Sweden) aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) (1993), el cual consiste en la inoculación del hongo en la superficie del agar RPMI (Roswell Park Memorial Institute, por sus siglas en inglés), seguido de la aplicación de una tira plástica impregnada con un gradiente de concentración del antifúngico, lo cual permite determinar la CMI. La placa se incuba a 35 °C por 24-48 h, se genera una elipse de inhibición que permite obtener la CMI en el punto de intersección entre el crecimiento del hongo y la línea graduada de la tira ¹⁴³.

Sensititre® YeastOne (TREK Diagnostic Systems) es el método comercial cuyo formato es semejante a la microplaca del CLSI. La diferencia es la adición de un indicador oxido-reducción, Azul Alamar, que facilita la interpretación de la CMI debido al cambio de color en el medio, basado en la reducción de la resazurina (azul) a resorufin (rojo fluorescente) por óxido-reductasas que se encuentran principalmente en la mitocondria de células vivas ²⁷.

Vitek2® (Biomerieux) es el método automatizado, utiliza una lectura espectrofotométrica, lo cual facilita la lectura de la CMI. Los resultados de CMI pueden obtenerse a partir de las 10 hasta las 26 horas de incubación ^{158, 166}.

2 Antecedentes

A finales del siglo XIX, posterior a la introducción de la DPCA como tratamiento de la IRC y de que la peritonitis fuera considerada como una complicación grave de la terapia establecida. Este hecho inquietó a diversos investigadores clínicos, los cuales realizaron estudios acerca de los agentes causales, poniendo mayor énfasis en las bacterias. El tema de los hongos como agentes causales de peritonitis data de los años 1980's, padecimiento que ha ido en incremento. En el cuadro 14 se muestra la revisión realizada sobre los estudios publicados a lo largo de las dos últimas décadas, sobre peritonitis fúngica en pacientes con IRC sometidos a DPCA.

Cuadro 14. Peritonitis fúngica en pacientes con IRC y DPCA durante los últimos 20 años.

Referencia, lugar y periodo	No. de pacientes	Comorbilidades	Especies	No. de aislamientos (%)	Tratamiento	Fallecimientos n (%)	Pacientes que reanudaron la DPCA n (%)
Wong PN, <i>et al.</i> 2000. Hong Kong, China.	7	DM2, tratamiento con antibióticos, edad avanzada.	<i>C. parapsilosis</i>	7 (100)	Fluconazol, anfotericina B. Retiro del catéter.	1 (14.2)	2 (28.5)
Manzano-Gayosso P, <i>et al.</i> 2003. CDMX, México, 1997 - 2001	15	DM2 e HTA	<i>C. albicans</i>	3 (20)	Anfotericina B, fluconazol. Retiro del catéter.	Ninguno	NE
			<i>C. parapsilosis</i>	3 (20)			
			<i>C. tropicalis</i>	2 (13)			
			<i>C. glabrata</i>	1 (7)			
			<i>C. guilliermondii</i>	1 (7)			
			<i>Aspergillus fumigatus</i>	3 (20)			
			<i>Acremonium sp.</i>	2 (13)			
Chen CM, <i>et al.</i> 2004. Taichung, Taiwan 1988 – 2002.	21	DM2, tratamiento con antibióticos.	<i>C. parapsilosis</i>	6 (29)	Anfotericina B, fluconazol. Retiro del catéter.	3 (15)	1 (5)
			<i>C. albicans</i>	3 (14)			
			<i>C. glabrata</i>	2 (10)			
			<i>Candida sp.</i>	3 (14)			
			<i>Trichosporon species</i>	2 (10)			
			<i>Madurella mycetomatis</i>	2 (10)			
			<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	1 (5)			
			<i>Otros (no identificados)</i>	2 (10)			
Molina P, <i>et al.</i> 2005. Valencia, España, enero de 1993 a noviembre de 2003.	11	Glomerulopatías, DM2, enfermedad vascular, tratamiento con antibióticos.	<i>Candida sp.</i>	7 (64)	Fluconazol asociado a 5-fluocitosina. Retiro del catéter en el 55 %.	4 (36.3)	1 (9)
			<i>C. albicans</i>	2 (18)			
			<i>C. parapsilosis</i>	1 (9)			
			<i>C. famata</i>	1 (9)			
Das R, <i>et al.</i> 2006. Londres, Reino Unido, diciembre de 1999 a Septiembre de 2003.	18	DM2, tratamiento con antibióticos.	<i>C. albicans</i>	8 (44)	Fluconazol y anfotericina B.	3 (16.6)	Ninguno
			<i>Candida spp.</i>	7 (38)			
			<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1 (6)			
			<i>Byssoschlamys fulva</i>	1 (6)			
			<i>Pichia ohmeri</i>	1 (6)			

Referencia, lugar y periodo	No. de pacientes	Comorbilidades	Especies aisladas	No. de aislamientos (%)	Tratamiento	Fallecimientos n (%)	Pacientes que reanudaron la DPCA n (%)
Chen KH, <i>et al.</i> 2006. Taiwán, 1990 – 2005.	22	DM2, tratamiento con antibióticos, glomerulonefritis.	<i>C. parapsilosis</i>	9 (41)	Fluconazol y anfotericina B. Retiro del catéter.	1 (4.5)	3 (13.6)
			<i>C. tropicalis</i>	4 (18)			
			<i>C. albicans</i>	3 (14)			
			<i>C. famata</i>	3 (14)			
			<i>Trichosporon cutaneum</i>	2 (9)			
			<i>Trichosporon sp.</i>	1 (5)			
Predari SC, <i>et al.</i> 2007 Buenos Aires, Argentina, 1981 – 2005.	8	HTA, DM2, tratamiento con antibióticos	<i>C. albicans</i>	5 (62.5)	Anfotericina B y 5-fluocitocina. A 7 (87.5 %) pacientes se les retiró el catéter.	Ninguno	3 (42.8)
			<i>C. parapsilosis</i>	1 (12.5)			
			<i>C. glabrata</i>	1 (12.5)			
			<i>Neosartorya hiratsukae</i>	1 (12.5)			
Ram R, <i>et al.</i> 2008. 1998 – 2008.	43	DM2, glomerulonefritis crónica, HTA,	<i>Candida. spp</i>	15 (37)	Fluconazol, anfotericina B, voriconazol. Retiro del catéter.	26 (60.5)	1 (2.3)
			<i>C. parapsilosis</i>	8 (19)			
			<i>Aspergillus flavus</i>	6 (14)			
			<i>C. albicans</i>	3 (7)			
			<i>Zygomycetes species</i>	3 (7)			
			<i>C. tropicalis</i>	2 (5)			
			<i>C. glabrata</i>	1 (2)			
			<i>C. guilliermondi</i>	1 (2)			
			<i>Trichosporon asahii</i>	1 (2)			
			<i>Trichosporon mucoides</i>	1 (2)			
<i>Curvularia lunata</i>	1 (2)						
Guclu E, <i>et al.</i> 2008. Turquía.	1	DM2, HTA, peritonitis bacteriana y tratamiento con antibióticos.	<i>Candida sake</i>	-----	Fluconazol y retiro del catéter. Transferencia a HD.	-----	-----
García-Martos P, <i>et al.</i> 2009. Cádiz, España, 1999 – 2008.	10	DM2, tratamiento con antibióticos.	<i>C. parapsilosis</i>	4 (40)	Fluconazol, voriconazol y anfotericina B. Retiro del catéter en 9 de los casos.	4 (40)	2 (22.2)
			<i>C. albicans</i>	2 (20)			
			<i>C. tropicalis</i>	1 (10)			
			<i>C. glabrata</i>	1 (10)			
			<i>C. famata</i>	1 (10)			
			<i>Fusarium oxysporum</i>	1 (10)			
Liu SW, <i>et al.</i> 2009. Taiwan,	1	Lupus eritematoso.	<i>Aspergillus sp.</i>	-----	Voriconazol y retiro del catéter. Transferencia a HD.	-----	-----

Referencia, lugar y periodo	No. de pacientes	Comorbilidades	Especies aisladas	No. de aislamientos (%)	Tratamiento	Fallecimientos n (%)	Pacientes que reanudaron la DPCA n (%)
Kumar KV <i>et al.</i> 2014. Karnataka, India, 2005 – 2012.	20	DM2, edad avanzada	<i>C. albicans</i>	13 (65)	Fluconazol. Retiro del catéter	4 (20)	12 (60)
			<i>C. tropicalis</i>	3 (15)			
			<i>C. parapsilosis</i>	2 (10)			
			<i>Rhizopus spp.</i>	1 (5)			
			<i>Alternaria spp.</i>	1 (5)			
Tatli Emel <i>et al.</i> 2015.	1	HTA	<i>C. guilliermondii</i>	-----	Fluconazol y transferencia a HD	-----	-----
Herrera MC, <i>et al.</i> 2016. Madrid, España, 2014.	1	HTA, peritonitis bacteriana previa, tratamiento con antibióticos	<i>C. parapsilosis</i>	-----	Fluconazol y transferencia a HD.	-----	Transferencia a DPA.
Álvarez E, <i>et al.</i> 2017. Chile, 2014.	1	HTA grave, colecistectomía, hernia, artrosis de cadera y rodilla, tratamiento con antibióticos.	<i>Thermoascus crustaceus</i>	-----	Anfotericina B. Retiro del catéter.	-----	-----
Renukprasad YS, <i>et al.</i> 2018. India (sur) 2010 – 2016.	36	DM2, HTA, nefritis intersticial crónica.	<i>C. albicans</i>	15 (41.6)	Fluconazol, caspofungina, voriconazol o anfotericina B.	5 (13.8)	5 (13.8)
			<i>C. tropicalis</i>	8 (22.2)			
			<i>C. parapsilosis</i>	2 (5.5)			
			<i>C. glabrata</i>	2 (5.5)			
			<i>A. flavus</i>	3 (8.3)			
			<i>A. terreus</i>	1 (2.7)			
			<i>A. nidulans</i>	2 (5.5)			
			<i>Penicillium</i>	1 (2.7)			
			<i>F. solani</i>	1 (2.7)			
<i>Cladosporium</i>	1 (2.7)						
San Juan PM, <i>et al.</i> 2018. CDMX, México, 2012 – 2013.	15	DMT2, HTA, edad avanzada.	<i>Candida tropicalis</i>	7 (47)	NE	NE	NE
			<i>C. parapsilosis</i>	4 (27)			
			<i>C. albicans</i>	3 (20)			
			<i>C. glabrata</i>	1 (7)			

IRC = Insuficiencia renal crónica; DPCA = Diálisis peritoneal continua ambulatoria; NE = No especificado; DM2 = Diabetes mellitus tipo 2; HTA = Hipertensión arterial; HD = Hemodiálisis.

3 Planteamiento del problema

La enfermedad renal crónica (ERC) es un padecimiento considerado un problema de salud pública a nivel mundial. Es una de las principales complicaciones en los pacientes que cursan con diabetes mellitus tipo 2 (DM2) e hipertensión arterial, que son enfermedades crónico-degenerativas de elevada frecuencia en nuestro país.

El 2 % de la población adulta con ERC se encuentra en etapas terminales del padecimiento que corresponde a la insuficiencia renal crónica (IRC), esto ha llevado a que los pacientes tengan que ingresar a programas de sustitución renal, sobresaliendo la diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA). Las complicaciones más frecuentes relacionadas al catéter de DPCA son las infecciones como la peritonitis, de las cuales el 20 % son secundarias a las infecciones en el sitio de salida (SS), en general son mal diagnosticadas y por ende mal tratadas. Las infecciones fúngicas a este nivel son poco frecuentes (3 – 15 %), sin embargo, están asociadas con una alta morbilidad y con un importante índice de mortalidad, así como la imposibilidad de continuar en el programa de diálisis, ya que el tratamiento incluye el retiro del catéter, por lo que es la primera causa de transferencia a hemodiálisis. Es común que el médico clínico inicie con la primera línea de administración de antimicrobianos de amplio espectro, sin la evidencia del patógeno en las infecciones peritoneales y en el sitio de salida del catéter. El tratamiento antifúngico se retrasa, debido al crecimiento lento de los hongos en el medio de cultivo, el cual se indica ante la evidencia del hongo.

En las dos últimas décadas se ha observado que las peritonitis fúngicas son recurrentes y aumento en el uso prolongado de antifúngicos; este evento ha inducido mayor presión selectiva sobre algunas especies fúngicas, lo que ha llevado al desarrollado de resistencia, la cual se incrementa por la formación de biopelículas.

El diagnóstico temprano y la identificación precisa de los microorganismos causantes de la infección peritoneal y del SS, así como el conocimiento de ciertos factores de virulencia como la formación de biopelículas y el perfil de sensibilidad

antifúngica, son la base para la caracterización epidemiológica y la selección del tratamiento oportuno, específico y dirigido hacia la especie causal de la infección. Bajo estas normas es probable que se incrementen las posibilidades de éxito para preservar la función dialítica de la membrana peritoneal.

4 Objetivos

4.1 Objetivo general

- Conocer las especies de *Candida* causantes de infección en el sitio de salida del catéter y de peritonitis en pacientes con ERC en etapa terminal, en tratamiento con DPCA, en el periodo 2016 a 2018.

4.2 Objetivos particulares

- Aislar e identificar fenotípicamente a las especies de *Candida* causantes de infecciones en el sitio de salida del catéter de pacientes con ERC en etapa terminal y DPCA.
- Aislar e identificar fenotípicamente a las especies de *Candida* causantes de peritonitis en pacientes con ERC en etapa terminal y DPCA.
- Determinar el patrón de sensibilidad de seis antifúngicos sobre los aislados de *Candida* spp.
- Relacionar la actividad de los seis antifúngicos y la especie de *Candida*.
- Evaluar la capacidad de formación de biopelículas de los aislados de *Candida* spp.
- Relacionar la capacidad de formación de biopelículas y la especie de *Candida*.

5 Metodología

5.1 Material biológico

Estudio descriptivo, transversal, en el que se incluyeron 34 aislados levaduriformes, obtenidos de muestras clínicas de líquido de diálisis (LD) (12) y exudado del sitio de salida del catéter (SS) (22). Todos los pacientes cursaban con IRC y sometidos a tratamiento de sustitución renal (DPCA o hemodiálisis (HD)) atendidos en el servicio de Nefrología del Hospital “Dr. Darío Fernández Fierro” del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado (ISSSTE). Del 1 de enero de 2016 al 31 de diciembre de 2018.

5.2 Toma de muestras y su procesamiento en el Laboratorio de

Microbiología del Hospital “Dr. Darío Fernández Fierro”, ISSSTE.

Las muestras fueron tomadas por el personal de enfermería y enviados en condiciones estériles al laboratorio de Microbiología del hospital para el aislamiento e identificación de los microorganismos (Figura 10). Una porción del LD (8 – 10 mL) se cultivó en frasco de hemocultivo; la otra se centrifugó y se cultivó el sedimento en medio CHROMagar Candida®, agar dextrosa Sabouraud (ADS) y agar chocolate. La incubación del cultivo de todas las muestras se prolongó hasta 1 semana para asegurar el desarrollo de hongos de lento crecimiento.

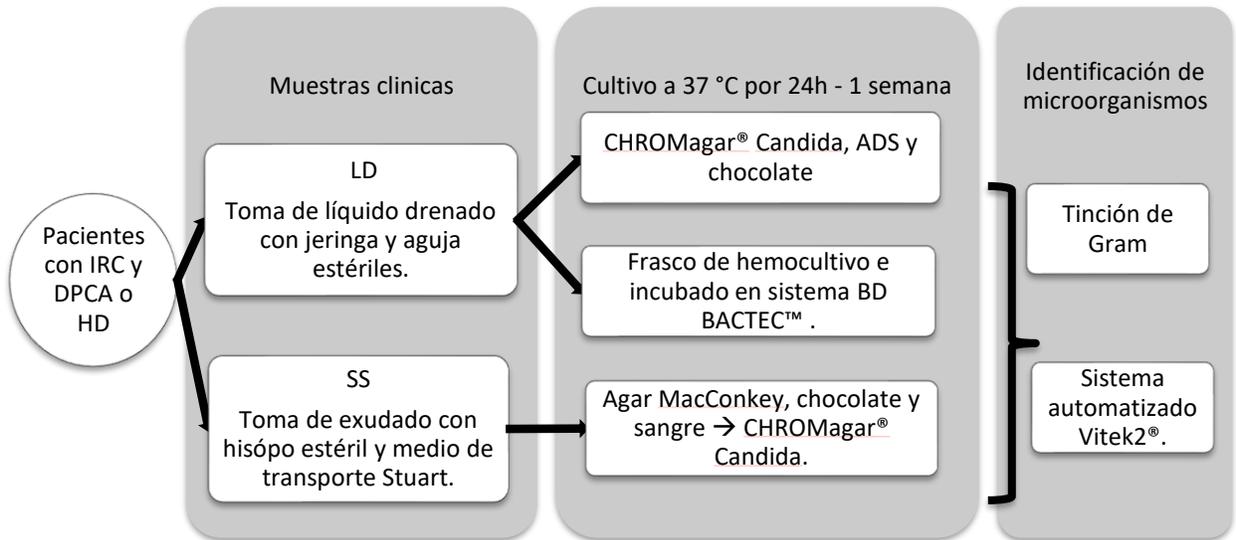


Figura 10. Diagrama general de la metodología seguida en el procesamiento de las muestras en el laboratorio de Microbiología del Hospital “Dr. Darío Fernández Fierro”, ISSSTE.

Las levaduras aisladas fueron transportadas a la Unidad de Micología, Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina, UNAM, para la realización de pruebas fenotípicas adicionales y estudio de sensibilidad a antifúngicos.

5.3 Pruebas fenotípicas para identificación de los aislados levaduriformes en la Unidad de Micología del Departamento de Microbiología y parasitología, Facultad de Medicina, UNAM.

5.3.1 Identificación por criterios enzimáticos y bioquímicos.

Cada aislado levaduriforme se sembró en CHROMagar® Candida por estría de agotamiento para obtener cultivos monospóricos y la identificación presuntiva con base en el color de las colonias.

El cultivo en agar dextrosa Sabouraud (ADS) se hizo para el mantenimiento y la conservación de las colonias. Los aislados fueron clasificados como sensibles o

resistentes a cicloheximida de acuerdo a su desarrollo en medio ADS adicionado con cicloheximida y cloranfenicol (ADS-A) (Figura 11).

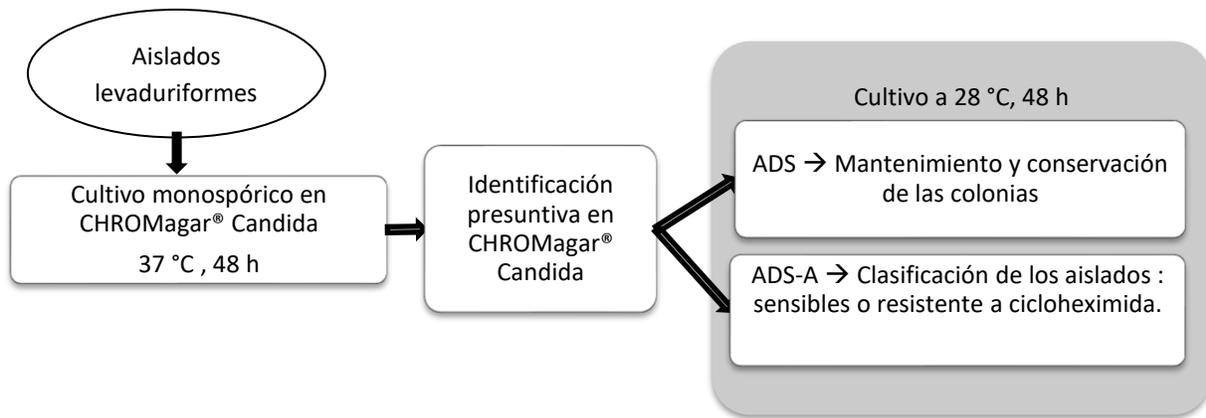


Figura 11. Diagrama general para la identificación fenotípica por criterios enzimáticos y bioquímicos.

5.3.2 Identificación por criterios microscópicos

Las pruebas incluyeron la producción de pseudohifas, hifas y clamidoconidios, en agar fécula de papa-zanahoria con Tween 80 al 1 %, mediante la técnica de Dalmau ^{89, 112}; y la formación de tubo germinativo en agar Müeller Hinton ^{102, 106} (Figura 12).

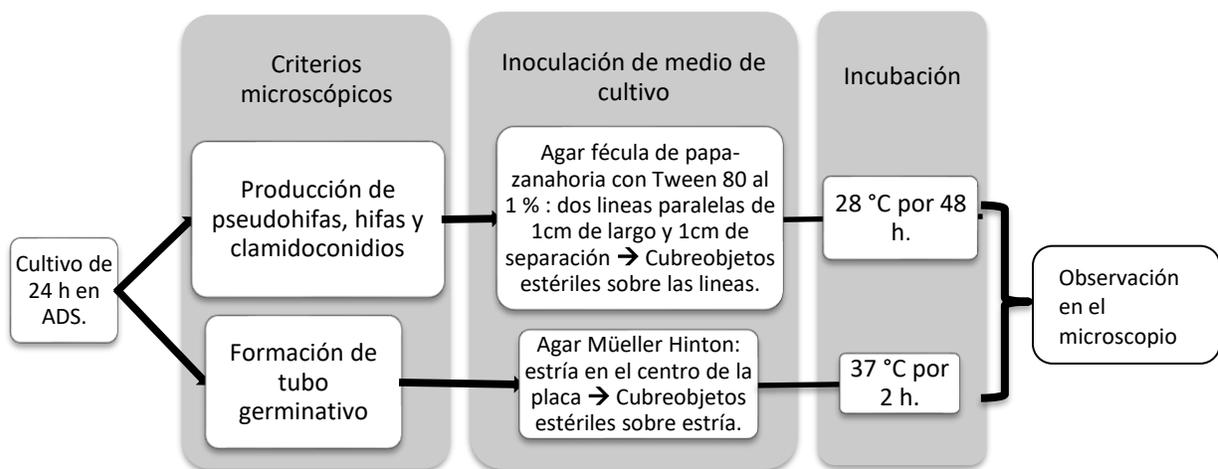


Figura 12. Diagrama general para la identificación fenotípica por criterios microscópicos.

5.4 Pruebas de sensibilidad antifúngica por microdilución en caldo M27-A3.

El estudio de sensibilidad a antifúngicos se llevó a cabo por el método de microdilución para levaduras, estandarizado por el CLSI: documento M27 - A3. Se evaluaron seis antifúngicos: fluconazol (FLZ), voriconazol (VRZ), itraconazol (ITZ), posaconazol (PSZ), anfotericina B (AMB) y caspofungina (CSF).

Preparación de placas con los diferentes antifúngicos.

A partir de soluciones madre se realizaron diluciones seriadas decrecientes de cada uno de los antifúngicos ejemplificadas en los cuadros 15 y 16;

Los antifúngicos se distribuyeron en las columnas de la microplaca, se colocaron 100 µL en los pozos de cada dilución: la mayor concentración en los pozos de la columna no. 1 y la dilución de menor concentración en los pozos de la columna no. 10. Los pozos de las columnas 11 y 12 se llenaron con caldo RPMI 1640, correspondieron al control de crecimiento y control de esterilidad del medio, respectivamente.

Cuadro 15. Diluciones de los antifúngicos insolubles en agua: ITZ, VRZ, PSZ y AMB

Tubo	Concentración (µg/mL)	Solución inicial	Volumen (mL)	Volumen de solvente DMSO (mL)	Concentración intermedia (µg/mL)	Concentración final después de diluir 1:100 (µg/mL)
1	1600	Solución madre	1.0	-	1600	16
2	1600		0.5	0.5	800	8
3	1600		0.5	1.5	400	4
4	1600		0.5	3.5	200	2
5	200	Tubo 4	0.5	0.5	100	1
6	200		0.5	1.5	50	0.5
7	200		0.5	3.5	25	0.25
8	25	Tubo 7	0.5	0.5	12.5	0.125
9	25		0.5	1.5	6.25	0.0625
10	25		0.5	3.5	3.125	0.03125

Cuadro 16. Diluciones de los antifúngicos solubles en agua: FLZ y CSF

Tubo	Concentración (µg/mL)	Solución inicial	Volumen (mL)	Volumen de solvente RPMI (mL)	Concentración intermedia (µg/mL)	Concentración final después de diluir 1:10 (µg/mL)
1	5120	Solución madre	1.0	7	640	64
2	640	Tubo 1	1.0	1.0	320	32
3	640		1.0	3.0	160	16
4	160	Tubo 3	1.0	1.0	80	8
5	160		0.5	1.5	40	4
6	160		0.5	3.5	20	2
7	20	Tubo 6	1.0	1.0	10	1
8	20		0.5	1.5	5	0.5
9	20		0.5	3.5	2.5	0.25
10	2.5	Tubo 9	1.0	1.0	1.25	0.125
11	2.5		0.5	1.5	0.625	0.0625
12	2.5		0.5	3.5	0.3125	0.03125

Inoculación de placas, lectura e interpretación de resultados.

Las placas se inocularon como se indica en la figura 13: el inóculo resultó de una dilución 1:1000 de la suspensión en solución salina isotónica (SSI) de cada aislado problema.

La lectura de las placas se realizó con un espejo invertido, para obtener la CMI que es la concentración más baja del antifúngico que produce una reducción específica en el crecimiento de la levadura, comparada con el control de crecimiento, después de 24 y 48 h de incubación según lo indicado en el método estandarizado. Cepas control de calidad del método fueron *C. parapsilosis* ATCC 22019; *C. krusei* ATCC 6258.

Los puntos de corte se establecieron según el suplemento S4 para CSF, FLZ y VRZ (cuadro 13). Los puntos de corte para ITZ, PSZ y AMB, así como los de algunas especies incluidas en este estudio: *C. lusitaniae* y *C. pelliculosa*, no descritos en el suplemento, se establecieron de acuerdo con diversos autores ^{6, 17, 31, 149}.

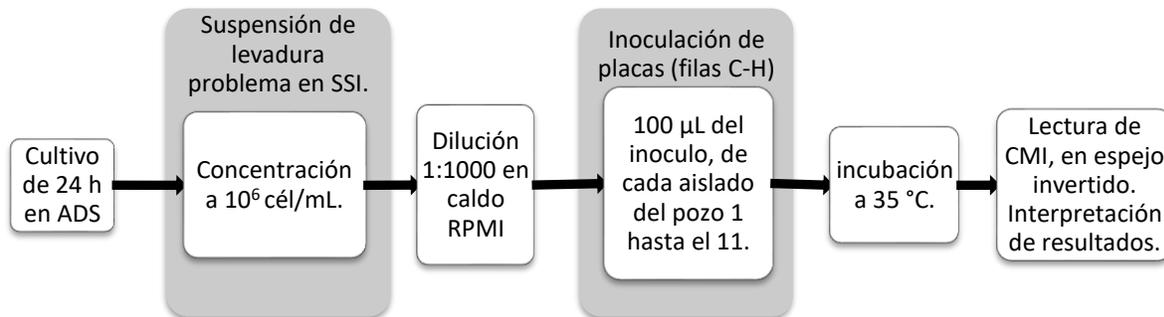


Figura 13. Diagrama general para la inoculación de placas y lectura

5.5 Evaluación de la formación de biopelículas en microplacas y cristal

violeta.

Del crecimiento de 24 h en ADS, de cada uno de los aislados, se realizó cultivo en tubos de 15 mL conteniendo caldo RPMI adicionado con 2% de glucosa, se incubaron 24 h a 37 °C; posteriormente se eliminó el sobrenadante y se hicieron tres lavados con PBS (Figura 14).

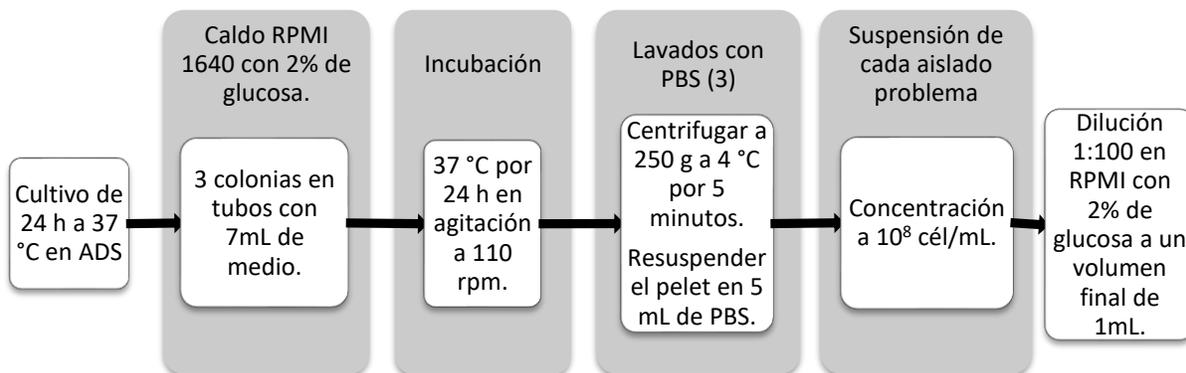


Figura 14. Diagrama general de la preparación de microplacas para la prueba de formación de biopelículas.

De la dilución final ajustada a 10^8 cél/mL, se tomaron 200 µL para inocular las microplacas de 96 pozos como se indica en el esquema de la figura 15. De cada

aislado se inocularon tres pozos y un control de esterilidad. La microplaca se incubó sin agitación a 37 °C durante 90 minutos (Fase de adhesión).

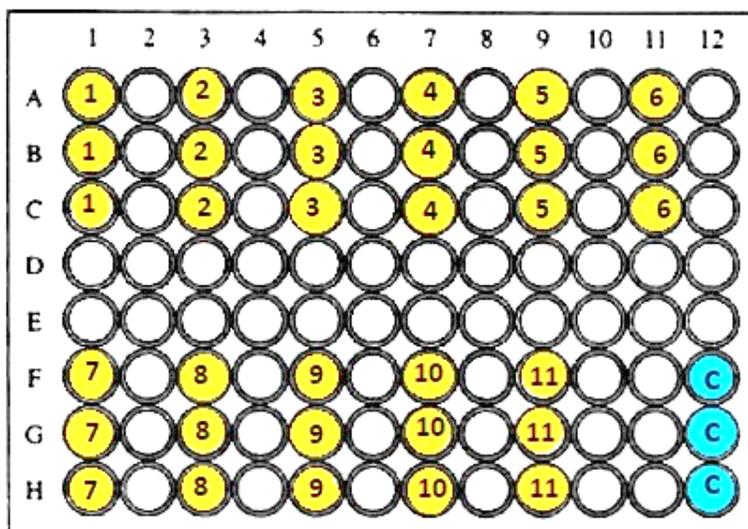


Figura 15. Posición de los aislados numerados del 1 al 11 en las microplacas. La columna de color azul corresponde al control de esterilidad.

A cada pozo de cada placa se agregaron 200 µL de caldo RPMI. La placa se incubó a 37 °C por 48h con agitación de 75 rpm. Posteriormente se realizaron dos lavados con 200 µL de PBS, y se fijó la biopelícula dejando secar a 35 °C durante 20 minutos. En cada pozo se agregaron 110 µL de cristal violeta (CV). Después de 45 min se hizo un lavado con PBS y se decoloró con 200 µL de etanol al 95 % durante 45 minutos. De la solución fueron transferidos 100 µL a una nueva placa para su lectura en espectrofotómetro (CHROMATE® AWARENSS, TECHNOLOGY INC. USA) a una longitud de onda de 595 nm. Estos ensayos se realizaron por triplicado.

5.5.1 Interpretación de los resultados

La clasificación de todos los aislados por su capacidad de formación de biopelículas se hizo siguiendo los criterios de Stepanovic *et al.*¹⁵⁴: Se calculó la media de la densidad óptica (DO) y la desviación estándar (DS) de los controles negativos, para establecer el punto de corte (DOc) como se indica a continuación:

$$DOc = DO_{media \ de \ los \ controles \ negativos} + 3(DS \ de \ los \ controles \ negativos)$$

La DO final de cada uno de los aislados se expresó como el valor de la DO medido individualmente para cada aislado sustrayendo el valor de DOc:

$$DO_{final} = DO \text{ de cada aislado} - DOc$$

Finalmente, los lineamientos que se siguieron para la clasificación fueron los siguientes:

- No Formadoras: $DO \leq DOc$
- Formadores débiles: $DOc < DO \leq 2DOc$
- Formadores moderados: $2DOc < DO \leq 4DOc$
- Formadores fuertes: $4DOc < DO$

5.6 Análisis estadístico

El análisis de resultados se hizo mediante la obtención de porcentajes y parámetros estadísticos media geométrica y desviación estándar. El programa GraphPad prism 6.0 se utilizó en el procesamiento de datos para la clasificación de los aislados por su capacidad de formar biopelículas, así como en la prueba t de *Student* para comparación de la actividad de los antifúngicos con mayor actividad. El valor de significancia fue $p < 0.05$.

6 Resultados

6.1 Microorganismos identificados en las muestras de líquido de diálisis (LD) y sitio de salida (SS).

6.1.1 Microorganismos aislados de muestras de líquido de diálisis.

De las 334 muestras de LD procesadas, como control de esterilidad de LD (304) y de pacientes con diagnóstico clínico de peritonitis (30); 39 (12%) fueron positivas para bacterias y 10 (3%) para levaduras (figura 16A).

De las muestras que correspondieron a bacterias se aisló con mayor frecuencia *Staphylococcus epidermidis*, seguido de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* (figura 16B).

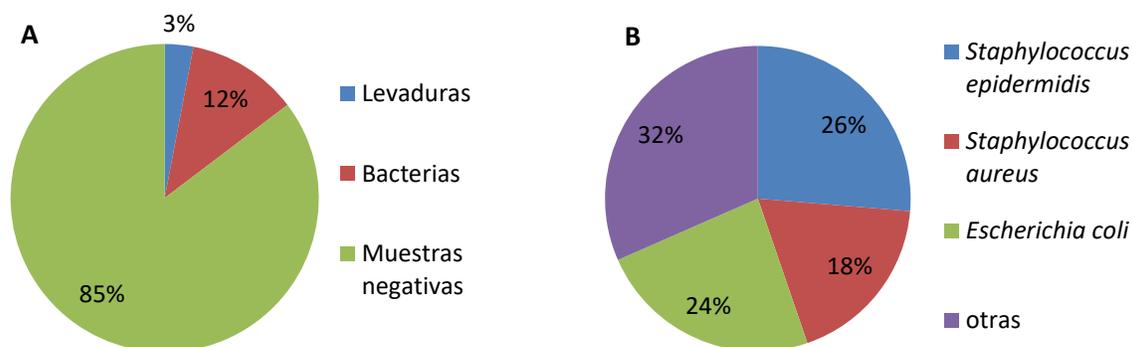


Figura 16. Microorganismos identificados en 334 muestras de LD procesadas durante el periodo 2016-2018. A) Porcentaje de los diferentes microorganismos detectados. B) Especies de bacterias aisladas con mayor frecuencia en 38 muestras positivas para bacterias.

Las 10 muestras positivas para levaduras se aislaron de 9 pacientes, cuyo rango de edad fue de 15 a 72 años, con un promedio de 62. Cinco de los pacientes fueron mujeres. La figura 17 muestra los datos demográficos y de comorbilidad de los 9 pacientes. La diabetes mellitus tipo 2 (DM2), la hipertensión arterial (HTA) y la administración de antibióticos fueron los tres principales factores de riesgo relacionados a los pacientes con IRC e infecciones fúngicas.

Todos los pacientes estaban en tratamiento con DPCA a través de la colocación de catéter TENCKOHFF, después de la peritonitis fúngica, cinco (55.5 %) fueron transferidos a hemodiálisis tras el retiro del catéter y colocación de catéter MAHURKAR. Dos pacientes fallecieron (22.2 %).

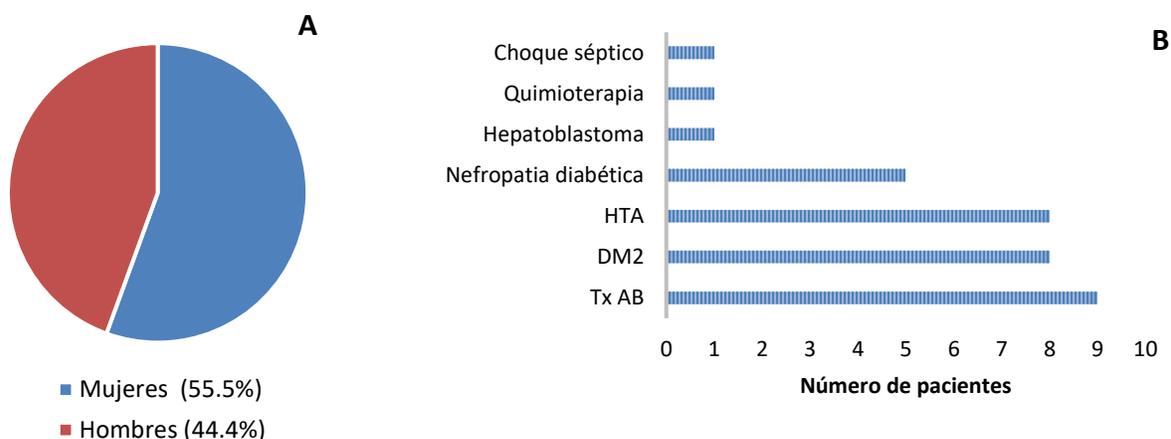


Figura 17. Datos demográficos y de comorbilidad de los 9 pacientes con peritonitis asociada a DPCA, de quienes se obtuvieron los aislados levaduriformes. A) Porcentaje de mujeres/hombres. B) Comorbilidades (HTA= Hipertensión arterial; DM2 = Diabetes Mellitus tipo 2; Tx AB = tratamiento con antibióticos).

De las 10 muestras se identificaron 12 aislados cuyas especies correspondieron al género *Candida*. Dos muestras presentaron asociación de dos morfotipos coloniales diferentes de *C. parapsilosis* (liso y rugoso) (Figura 22B), observadas después de 2 semanas de incubación a 28 °C. En la figura 18 presenta la distribución de las especies de *Candida* obtenidas de LD.

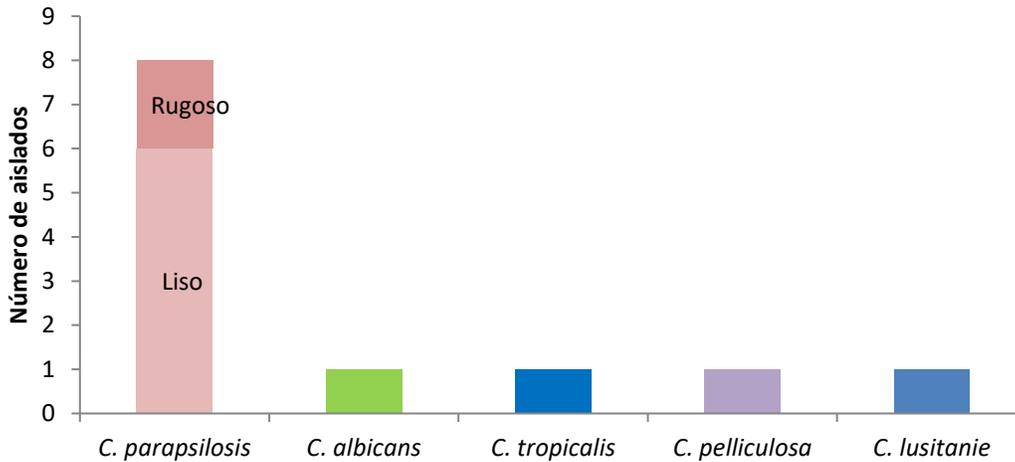


Figura 18. Especies de *Candida* aisladas de muestras de líquido de diálisis. La barra correspondiente a *C. parapsilosis* señala los dos morfotipos coloniales.

6.1.2 Microorganismos aislados de muestras de sitio de salida del catéter.

De 1,727 muestras procesadas del SS, 1,407 (81%) fueron positivas para bacterias y 17 (1%) para levaduras (figura 19A).

Las especies bacterianas aisladas con mayor frecuencia fueron *Staphylococcus aureus*, seguido de *Escherichia coli* y *Staphylococcus epidermidis* (Figura 19B).

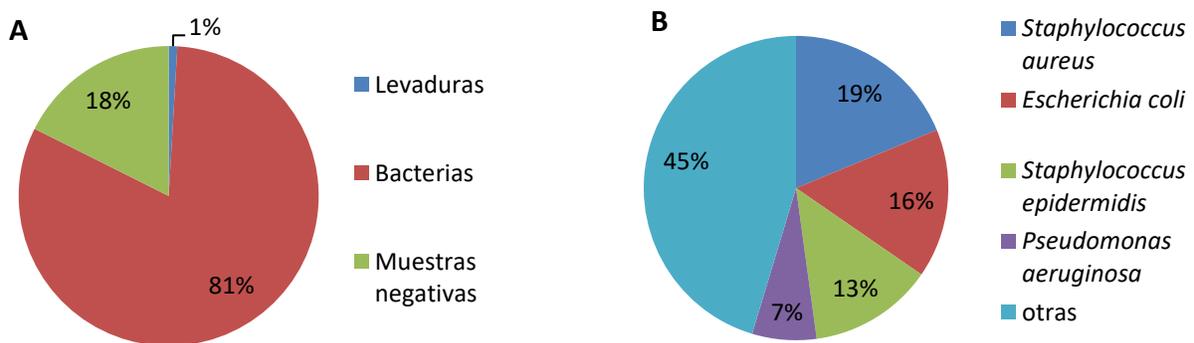


Figura 19. Microorganismos identificados en 1,727 muestras de SS procesadas durante el periodo 2016-2018. A) Porcentaje de los diferentes microorganismos detectados. B) Diferentes bacterias identificadas.

Las 17 muestras de SS positivas para levaduras se obtuvieron de 15 pacientes (13 en tratamiento con DPCA, uno con DPI y uno con HD). El rango de edad de los pacientes fue de 44 a 77 años, con un promedio de 61; y 8 de los cuales correspondieron al género masculino. En la figura 20 se muestra los datos de comorbilidad de los pacientes. La DM2 y la administración de antibióticos fueron los principales factores de riesgo asociados a la IRC e infección fúngica. De estos pacientes, uno sometido a tratamiento con DPCA fue transferido a HD y el paciente con HD fue transferido a DPCA. Un paciente falleció (6.6 %).

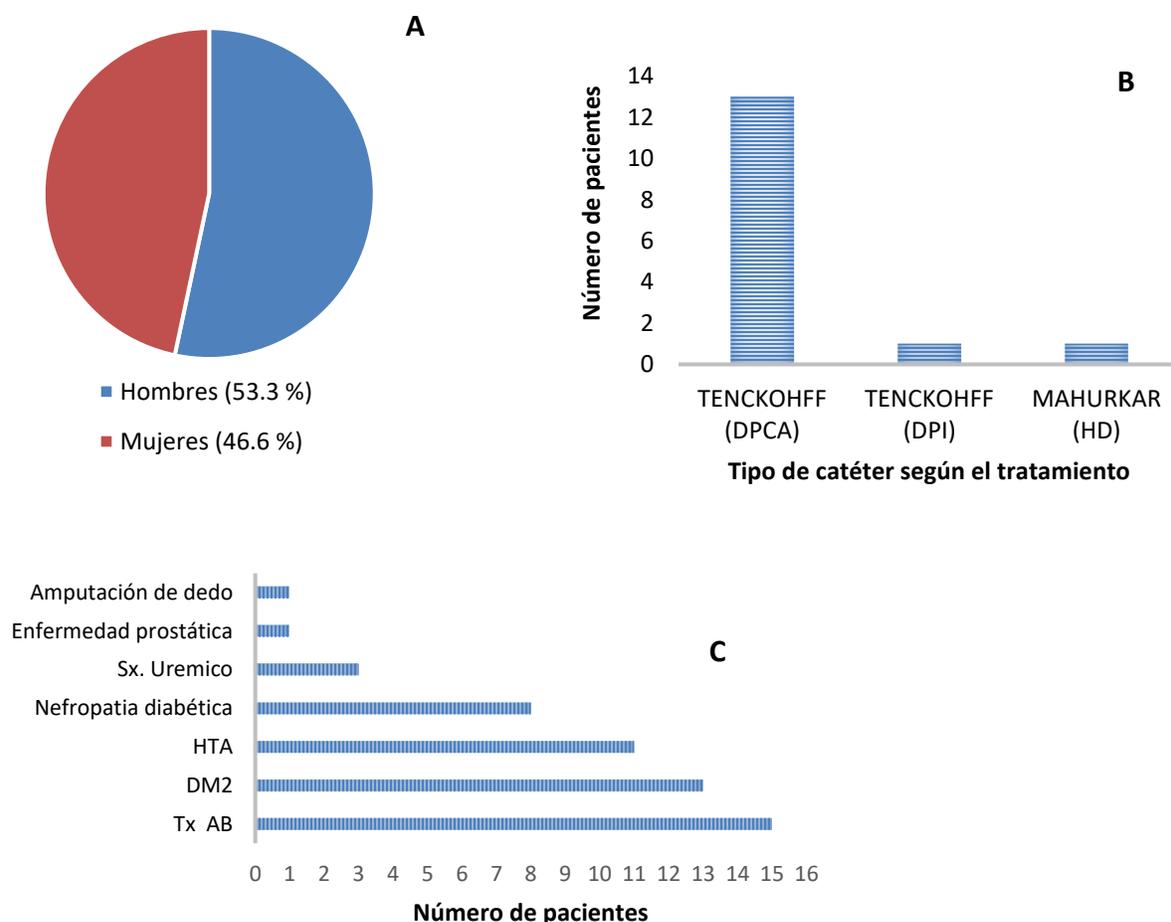


Figura 20. Datos demográficos y de comorbilidad de los 15 pacientes con IRC en tratamiento con diálisis asociado a infección fúngica en el sitio de salida del catéter. A) Porcentaje de mujeres/hombres. B) Tipo de catéter en los pacientes según su tratamiento de sustitución inicial (DPCA = Diálisis peritoneal, DPI = Diálisis peritoneal intermitente y HD = Hemodiálisis). C) Comorbilidades (HTA = Hipertensión arterial; DM2 = Diabetes Mellitus tipo 2; Tx AB = tratamiento con antibióticos).

De las 17 muestras procesadas de SS se identificaron 22 aislados. En dos de las muestras se presentó la asociación de dos especies diferentes, una de ellas correspondió a la muestra de SS de catéter de HD (asociación de *C. albicans* y *C. tropicalis*) y la otra de DPI (asociación de *C. albicans* y *C. parapsilosis*); en tres muestras más se presentó la asociación de dos morfotipos distintos de *C. parapsilosis* (liso y rugoso). En la figura 21 se muestra todos los aislados por especie del género *Candida*. Todas las asociaciones se observaron aproximadamente después de 2 semanas de incubación (Figura 22).

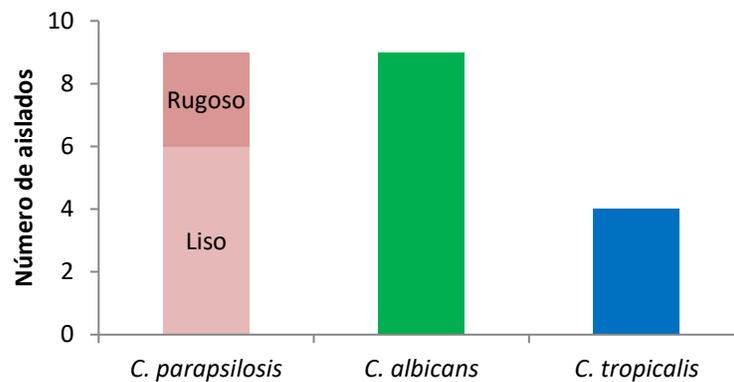


Figura 21. Especies de *Candida* aisladas de muestras de SS. La barra correspondiente a *C. parapsilosis* señala los dos morfotipos de las colonias.

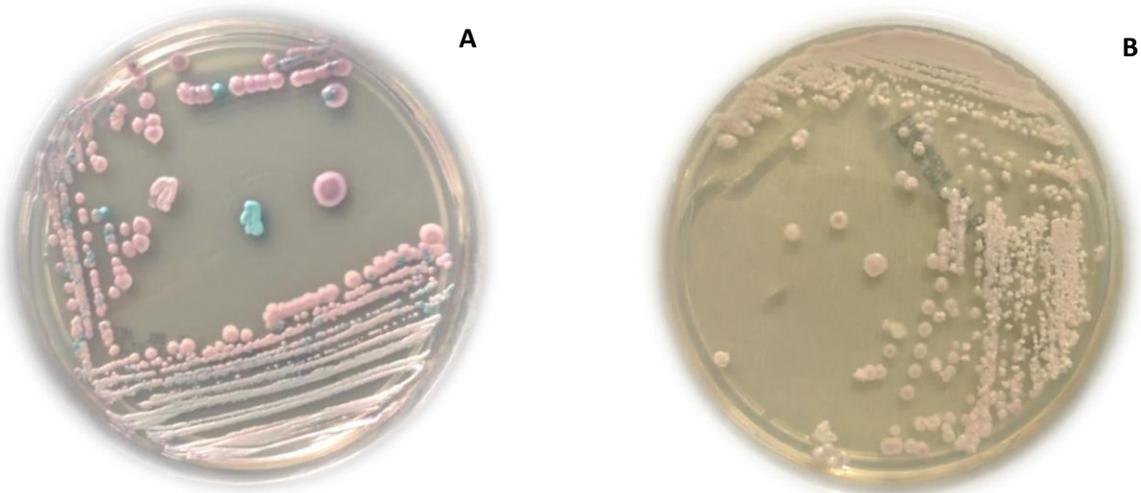


Figura 22. A) Asociaciones de especies diferentes de *Candida* en medio CHROMagar®Candida.
B) Asociación de dos morfotipos de *C. parapsilosis* (rugoso y liso).

En la figura 23 se presenta la tendencia por mes y año, en el aislamiento de la levadura causante de infección fúngica asociada a diálisis en pacientes con IRC de 2016 a 2018. En los aislados de LD (n = 12) hubo variabilidad, específicamente hubo un aumento en los meses de julio y noviembre, coincidiendo el incremento en julio de 2017 y 2018, mientras que en noviembre, en 2016 y 2018 (Figura 23A). En los aislados de SS (n = 22) se observó la tendencia en la segunda mitad de cada año, específicamente en los meses agosto a noviembre; fue evidente que en el 2017 se presentó un incremento de julio a agosto, con ligera caída en septiembre y un aumento importante en octubre (figura 23B). En este periodo hubo predominio de las especies *C. albicans* (siete de los 9 aislados: 3 en 2016, 2 en 2017 y 2 en 2018) y *C. tropicalis* (tres de los 4 aislados: 1 en 2016 y 2 en 2018).

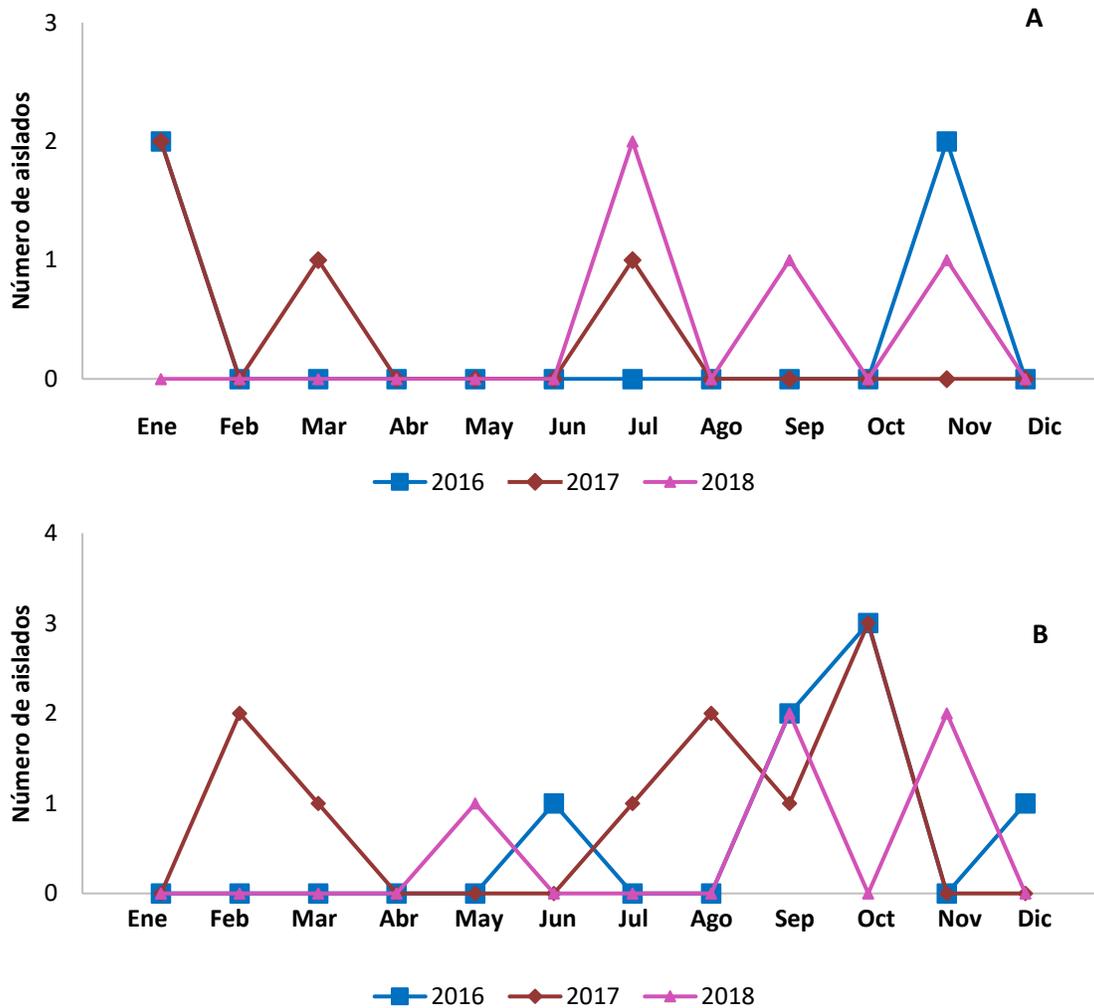


Figura 23. Frecuencia de tiempo del número de aislados por mes y año de 2016 a 2018. A) Aislamiento de muestras de LD; B) Aislamiento de muestras de SS.

6.2 Identificación fenotípica de los aislados levaduriformes

6.2.1 Criterios macroscópicos, enzimáticos y bioquímicos

Las características morfológicas de las colonias obtenidas de LD y de SS en los diferentes medios de cultivo: CHROMagar® Candida y ADS, se muestra en el cuadro 17.

Cuadro 17. Identificación presuntiva y morfología colonial de aislados obtenidos de LD y SS.

Aislados de LD						
Aislado	Clave	Características de las colonias en medio CHROMagar® Candida				Características de las colonias en medio ADS
		Textura	Color	Clave*	Identificación presuntiva	
1	122TS	Lisa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	Creemosas, bien limitadas, de color blanco
2	123TS	Lisa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	Creemosas, bien limitadas, de color blanco
3	70LM	Lisa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	Creemosas, bien limitadas, de color blanco
4	71LM	Lisa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	Creemosas, bien limitadas, de color blanco
5	29MGL	Lisa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	Creemosas, limitadas, opacas, de color blanco
6	29MGR	Rugosa	Rosa pálido	434 C	<i>C. parapsilosis</i>	Creemosas, superficie plegada, de color blanco
7	36MG	Lisa	Púrpura pálido	434 C	<i>C. pelliculosa</i>	Creemosas, bien limitadas, opacas, de color blanco
8	99LM	Lisa	Verde	338 C	<i>C. albicans</i>	Creemosas, limitadas, opacas, de color blanco
9	160LML	Lisa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	colonias creemosas, limitadas, de color blanco
10	160LMR	Rugosa	Rosa pálido	434 C	<i>C. parapsilosis</i>	Creemosas, superficie plegada, de color blanco
11	284MG	Lisa	Azul metálico	308 C	<i>C. tropicalis</i>	Colonias creemosas, con margen filamentosos, opacas, de color blanco
12	176MG	Lisa	Lila	5155 C	<i>C. lusitaniae</i>	Colonias creemosas, limitadas, opacas, de color blanco
Aislados de muestras de SS						
Aislado	Clave	Características de las colonias en medio CHROMagar® Candida				Morfología de las colonias en medio ADS
		Textura	Color	Clave*	Identificación presuntiva	
1	4TS	Lisa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	Colonias creemosas, bien limitadas, de color blanco
2	83TS	Lisa	Azul metálico	308 C	<i>C. tropicalis</i>	Colonias creemosas, con margen filamentosos, opacas, de color blanco
3	84TS	Lisa	Verde	359 C	<i>C. albicans</i>	Colonias creemosas, bien limitadas, de color blanco
4	105TS	Lisa	Verde	338 C	<i>C. albicans</i>	Colonias creemosas, bien limitadas, de color blanco
5	106TSR	Rugosa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	Creemosas, superficie plegada, de color blanco
6	106TSV	Lisa	Verde	338 C	<i>C. albicans</i>	colonias creemosas, limitadas, opacas, de color blanco
7	141TS	Lisa	Verde	338 C	<i>C. albicans</i>	colonias creemosas, bien limitadas, opacas, de color blanco

Aislado	Clave	Características de las colonias en medio CHROMagar® Candida				Morfología de las colonias en medio ADS
		Textura	Color	Clave*	Identificación presuntiva	
8	22LML	Lisa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	colonias cremosas, limitadas, opacas, de color blanco
9	22LMR	Rugosa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	Creemosas, superficie plegada, de color blanco
10	9LM	Lisa	Verde	338 C	<i>C. albicans</i>	Colonias cremosas, limitadas, de color blanco
11	92MG	Lisa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	Creemosas, superficie plegada, de color blanco
12	107LML	Lisa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	Creemosas, superficie plegada, de color blanco
13	107MLR	Rugosa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	Colonias cremosas, superficie mate, surcadas, de color blanco
14	123LM	Lisa	Verde	3258 C	<i>C. albicans</i>	Colonias cremosas, bien limitadas, de color blanco
15	133LM	Lisa	Verde	338 C	<i>C. albicans</i>	Colonias cremosas, bien limitadas, de color blanco
16	134LML	Lisa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	Colonias cremosas, bien limitadas, de color blanco
17	134LMR	Rugosa	Rosa pálido	435 C	<i>C. parapsilosis</i>	Creemosas, superficie plegada, de color blanco
18	195MG	Lisa	Azul metálico	549 C	<i>C. tropicalis</i>	Colonias cremosas, con margen filamentosos, opacas, de color blanco
19	174MG	Lisa	Azul metálico	549 C	<i>C. tropicalis</i>	Colonias cremosas, con margen filamentosos, opacas, de color blanco
20	229MG	Lisa	Azul metálico	549 C	<i>C. tropicalis</i>	Colonias cremosas, con margen filamentosos, opacas, de color blanco
21	182MG	Lisa	Verde	338 C	<i>C. albicans</i>	Colonias cremosas, bien limitadas, de color blanco
22	175MG	Lisa	Verde	338 C	<i>C. albicans</i>	Colonias cremosas, bien limitadas, de color blanco

*Clave correspondiente al color de la Guía de colores de Pantone®.

Crecimiento en ADS con antibiótico y criterios microscópicos

La clasificación sensible o resistente a la cicloheximida, de cada aislado obtenido de LD y SS, así como la producción de hifas o pseudohifas, clamidoconidios y producción de tubo germinativo, se muestra en el cuadro 18.

Finalmente, de los aislados de LD fueron identificados cinco especies: *C. parapsilosis*, *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* y *C. pelliculosa*. De los de SS se identificaron tres especies: *C. parapsilosis*, *C. albicans* y *C. tropicalis*.

Algunas de las características macroscópicas y microscópicas de las diferentes especies aisladas en este estudio se muestran en las figuras 24 y 25.

Cuadro 18. Clasificación frente a cicloheximida y características microscópicas de los aislados obtenidos de LD y SS.

Aislados de muestras de LD					
Aislado	Clave	Clasificación frente a cicloheximida	Características microscópicas		
			Hifas o pseudohifas	Clamidoconidios	Tubo germinativo
1	122TS	S	Pseudohifas largas en disposición aracniforme	Negativo	Negativo
2	123TS	S	Pseudohifas en disposición aracniforme	Negativo	Negativo
3	70LM	S	Pseudohifas cortas	Negativo	Negativo
4	71LM	S	Pseudohifas cortas	Negativo	Negativo
5	29MGL	S	pseudohifas ramificadas	Negativo	Negativo
6	29MGR	S	pseudohifas largas y ramificadas arboriformes	Negativo	Negativo
7	36MG	S	Blastoconidios	Negativo	Negativo
8	99LM	R	Hifas largas y cúmulos de blastoconidios dispuestos alrededor de las constricciones de la pseudohifa	Positivo	Positivo
9	160LML	S	Pseudohifas ramificadas	Negativo	Negativo
10	160LMR	S	Pseudohifas largas y ramificadas	Negativo	Negativo
11	284MG	S	Hifas y pseudohifas aracniformes	Negativo	Negativo
12	176MG	S	Pseudohifas en disposición arboriforme	Negativo	Negativo
Aislados de muestras de SS					
Aislado	Clave	Clasificación frente a cicloheximida	Características microscópicas		
			Hifas o pseudohifas	Clamidoconidios	Tubo germinativo
1	4TS	S	Pseudohifas largas y ramificadas	Negativo	Negativo
2	83TS	NP	NP	NP	NP
3	84TS	R	Hifas largas y cúmulos de blastoconidios dispuestos alrededor de las constricciones de la pseudohifa y cuerpo suspensorio	Positivo	Positivo
4	105TS	R	Hifas largas y cúmulos de blastoconidios dispuestos alrededor de las constricciones de la pseudohifa	Positivo	Positivo
5	106TSR	S	Pseudohifas largas en disposición aracniforme	Negativo	Negativo
6	106TSV	R	Hifas largas y cúmulos de blastoconidios dispuestos alrededor de las constricciones de la pseudohifa	Positivo	Positivo
7	141TS	R	Hifas largas y cúmulos de blastoconidios dispuestos alrededor de las constricciones de la pseudohifa	Positivo	Positivo

Aislado	Clave	Clasificación frente a cicloheximida	Características microscópicas		
			Hifas o pseudohifas	Clamidoconidios	Tubo germinativo
8	22LML	S	Pseudohifas cortas	Negativo	Negativo
9	22LMR	S	Pseudohifas en disposición aracniforme	Negativo	Negativo
10	9LM	R	Hifas largas y ramificadas	Positivo	Positivo
11	92MG	S	Pseudohifas cortas	Negativo	Negativo
12	107LML	S	Pseudohifas cortas	Negativo	Negativo
13	107LMR	S	Pseudohifas en disposición aracniforme	Negativo	Negativo
14	123LM	R	Hifas largas y cúmulos de blastoconidios dispuestos alrededor de las constricciones de la pseudohifa	Positivo	Positivo
15	133LM	R	Hifas largas y cúmulos de blastoconidios dispuestos alrededor de las constricciones de la pseudohifa	Positivo	Positivo
16	134LML	S	Pseudohifas cortas	Negativo	Negativo
17	134LMR	S	Pseudohifas en disposición aracniforme	Negativo	Negativo
18	195MG	S	Hifas y pseudohifas	Negativo	Negativo
19	174MG	S	Hifas y pseudohifas aracniformes	Negativo	Negativo
20	229MG	S	Hifas y pseudohifas ramificadas	Negativo	Negativo
21	182MG	R	Hifas largas y cúmulos de blastoconidios dispuestos alrededor de las constricciones de la pseudohifa	Positivo	Positivo
11	175MG	R	Hifas largas y cúmulos de blastoconidios dispuestos alrededor de las constricciones de la pseudohifa	Positivo	Positivo

S = sensible, R = Resistente, NP = No procesado

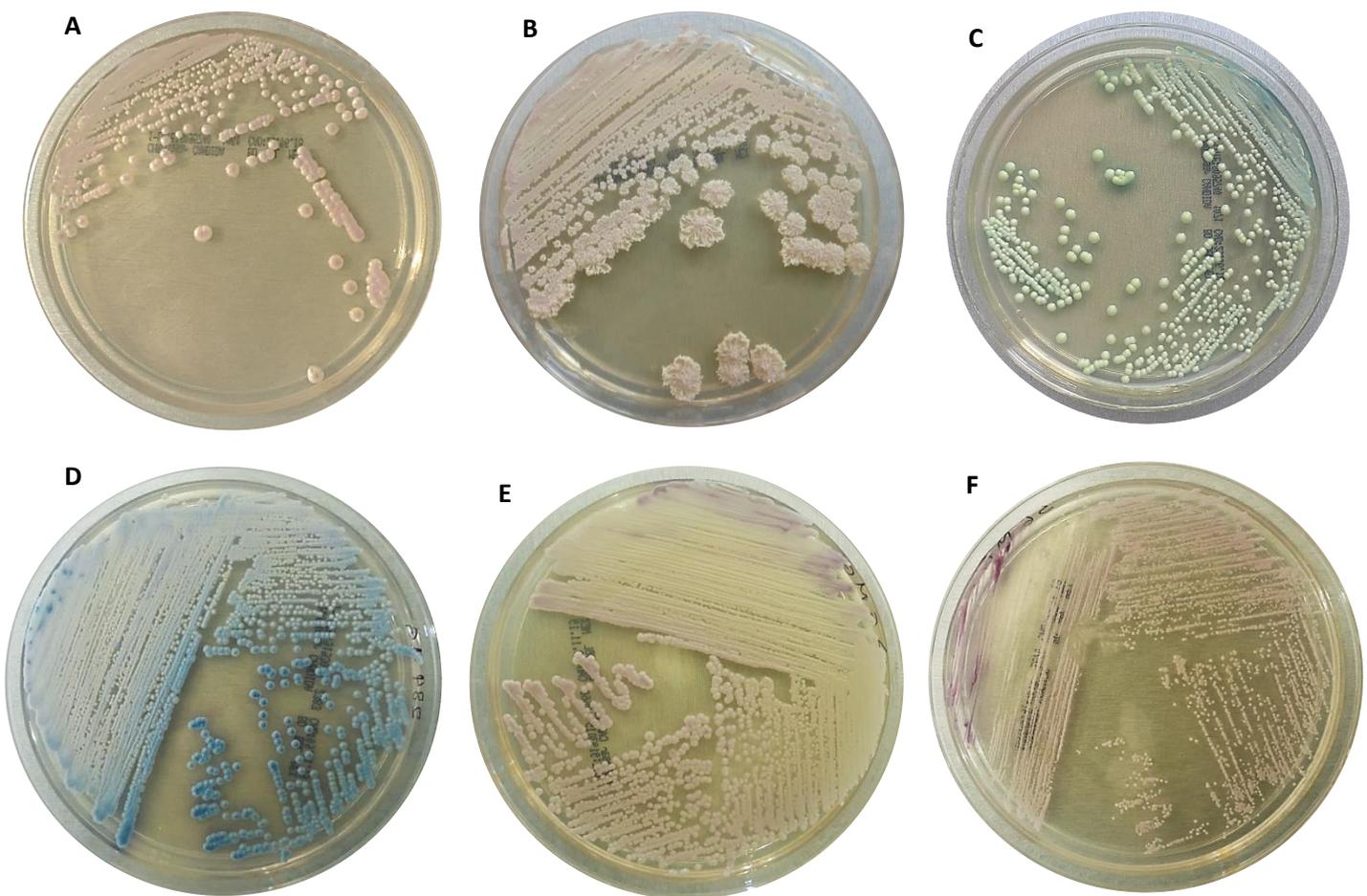


Figura 24. Diferentes especies de *Candida* aisladas en este estudio, en medio CHROMagar® Candida A) *C. parapsilosis* (morfotipo liso) B) *C. parapsilosis* (Morfotipo rugoso) C) *C. albicans* D) *C. tropicalis*. E) *C. lusitanae* F) *C. pelliculosus*

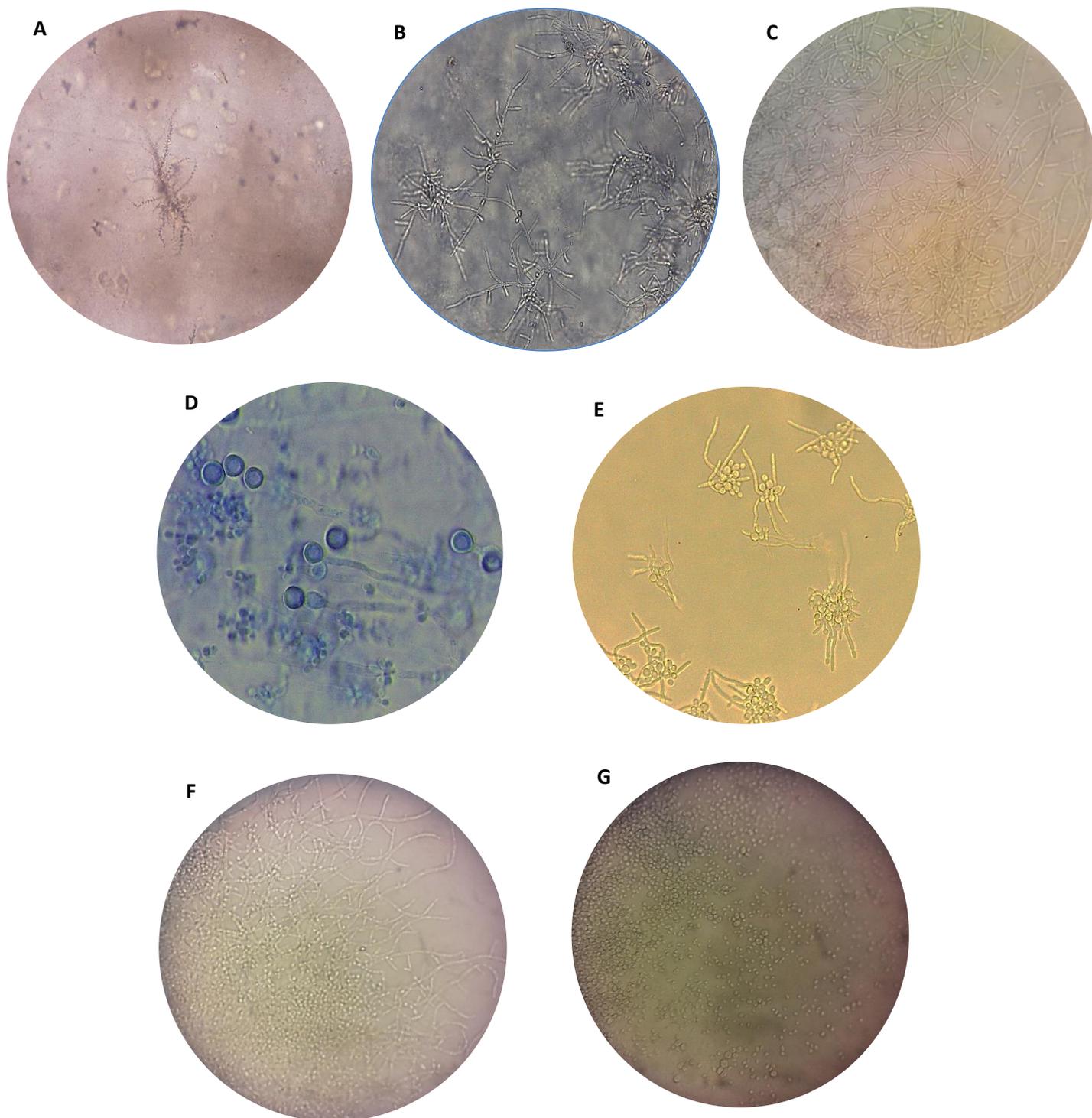


Figura 25. Características microscópicas de las diferentes especies de *Candida* aisladas en este estudio. A y B) Pseudohifas de *C. parapsilosis*, ramificadas a partir de un cumulo central en crecimiento aracniforme. C) Hifas y pseudohifas ramificadas de *C. tropicalis* D) Clamidoconidios de *C. albicans* E) Tubo germinativo de *C. albicans* en suero, a las 2 h de incubación. F) Pseudohifas cortas de *C. lusitanae*, se observan blastoconidios en mayor proporción. G) blastoconidios de *C. palliculoso*.

6.3 Patrón de sensibilidad y especies de *Candida*

Todos los aislados de LD y SS evaluados (33), independientemente de la especie, fueron sensibles a dos de los triazoles PSZ y FLZ. La mayoría a la concentración más baja de CMI: 0.03 µg/mL (PSZ en 27 aislados (87 %) y 0.125 µg/mL (FLZ en 22 aislados (71 %)), seguido de VRZ en 26 aislados (84%) CMI de 0.03 µg / mL. La CMI obtenida con la actividad de ITZ fue de 0.03, 0.06 y 0.125 µg / mL en 11, 7 y 12 aislados, respectivamente. El rango de los valores de CMI con AMB fue de 0.125 a 0.25 µg / mL frente a 9 y 15 de los aislados, respectivamente y con CSF de 0.25 a 0.5 µg / mL en 10 y 13 de los aislados, respectivamente.

6.3.1 Relación entre los aislados de LD y su patrón de sensibilidad

En la figura 26 se observa la resistencia, principalmente a AMB (25 %), y sensibilidad - dosis dependiente (SDD) a ITZ (25 %) y CSF (8.3 %).

De los aislados que presentaron resistencia, *C. albicans* (aislado 99LM) y *C. parapsilosis* (70LM y 71LM) fueron las especies en las que se observó resistencia a más de un antifúngico.

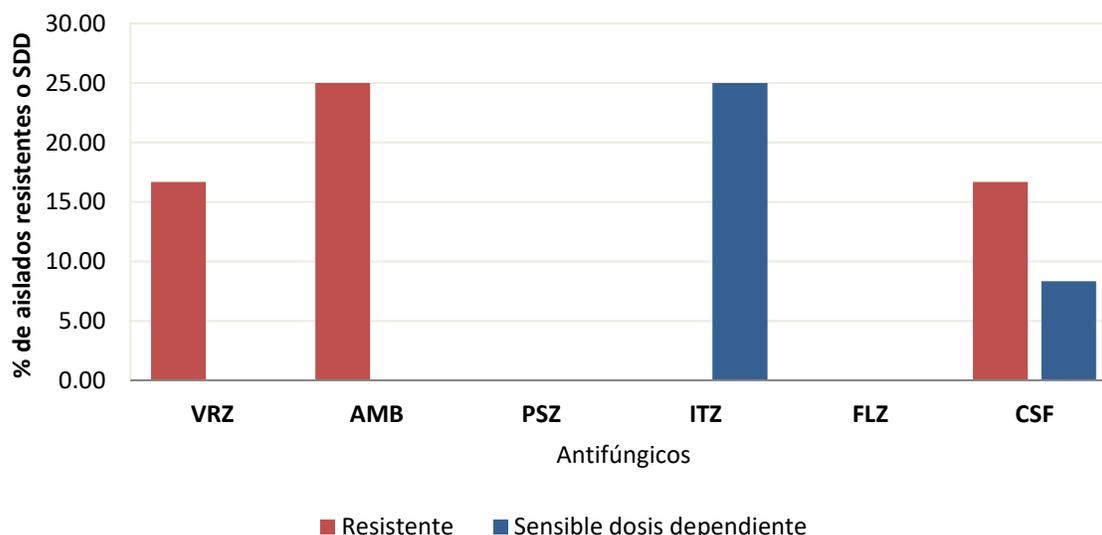


Figura 26. Porcentaje de aislados de muestras de LD resistentes o sensible dosis dependiente a los antifúngicos evaluados. VRZ = voriconazol; AMB = anfotericina B; PSZ = posaconazol; ITZ = itraconazol; FLZ = fluconazol; CSF = caspofungina.

En los aislados de *C. parapsilosis* de LD (n = 8), se calculó la media y desviación estándar de la CMI frente a cada uno de los antifúngicos (Figura 27). Posaconazol fue el antifúngico que mostró la mayor actividad frente a *C. parapsilosis*, seguido de voriconazol, con una CMI de 0.030 µg / mL y 0.042 µg / mL, respectivamente.

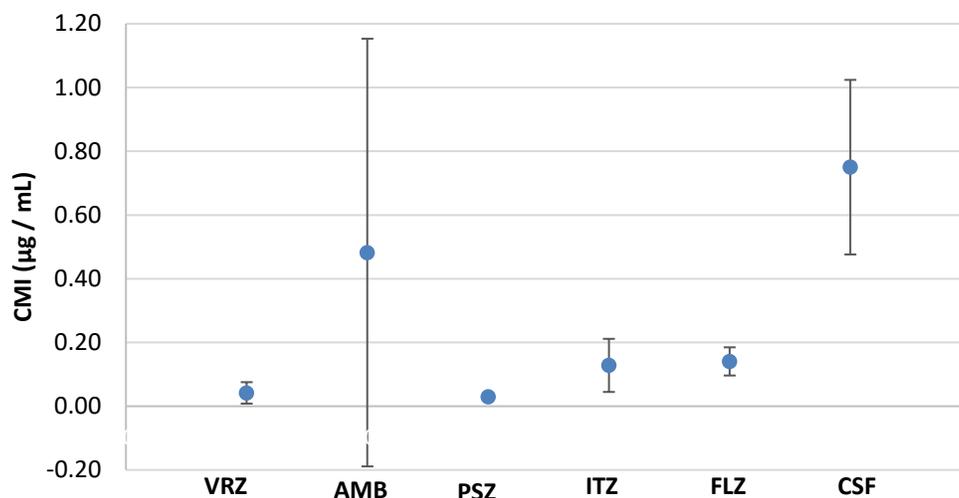


Figura 27. Representación de las medias de las CMI con cada uno de los antifúngicos sobre los aislados de *Candida parapsilosis* de muestras de LD. VRZ = voriconazol; AMB = anfotericina B; PSZ = posaconazol; ITZ = itraconazol; FLZ = fluconazol; CSF = caspofungina.

6.3.2 Relación entre los aislados de muestras de SS y su patrón de sensibilidad

Todos los aislados procesados (21) mostraron sensibilidad a tres azoles (PSZ, ITZ y FLZ); con los otros antifúngicos se observó SDD o resistencia. El 19 % de los aislados presentaron resistencia a AMB (Figura 28). Uno de los aislados de *C. parapsilosis* (92MG) fue resistente a VRZ (1µg /mL) y a AMB (2 µg / mL).

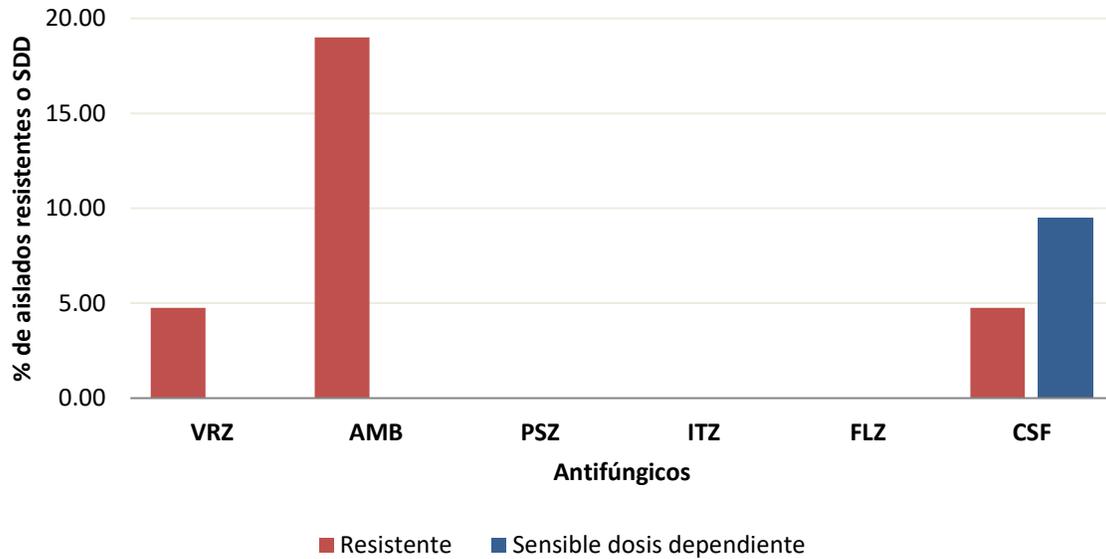


Figura 28. Porcentaje de aislados de muestras de SS resistentes o sensibles dosis dependientes a los antifúngicos evaluados. VRZ = voriconazol; AMB = anfotericina B; PSZ = posaconazol; ITZ = itraconazol; FLZ = fluconazol; CSF = caspofungina.

En la figura 29 se observan los gráficos que corresponden a las medias y desviación estándar para cada una de las especies evaluadas con cada uno de los antifúngicos. El antifúngico que mostró mayor actividad frente a *C. parapsilosis* y *C. albicans* fue PSZ con una CMI de 0.037 $\mu\text{g/mL}$ y 0.033 $\mu\text{g/mL}$, respectivamente; mientras que frente a *C. tropicalis* el antifúngico con mayor actividad fue VRZ con una CMI de 0.030 $\mu\text{g/mL}$.

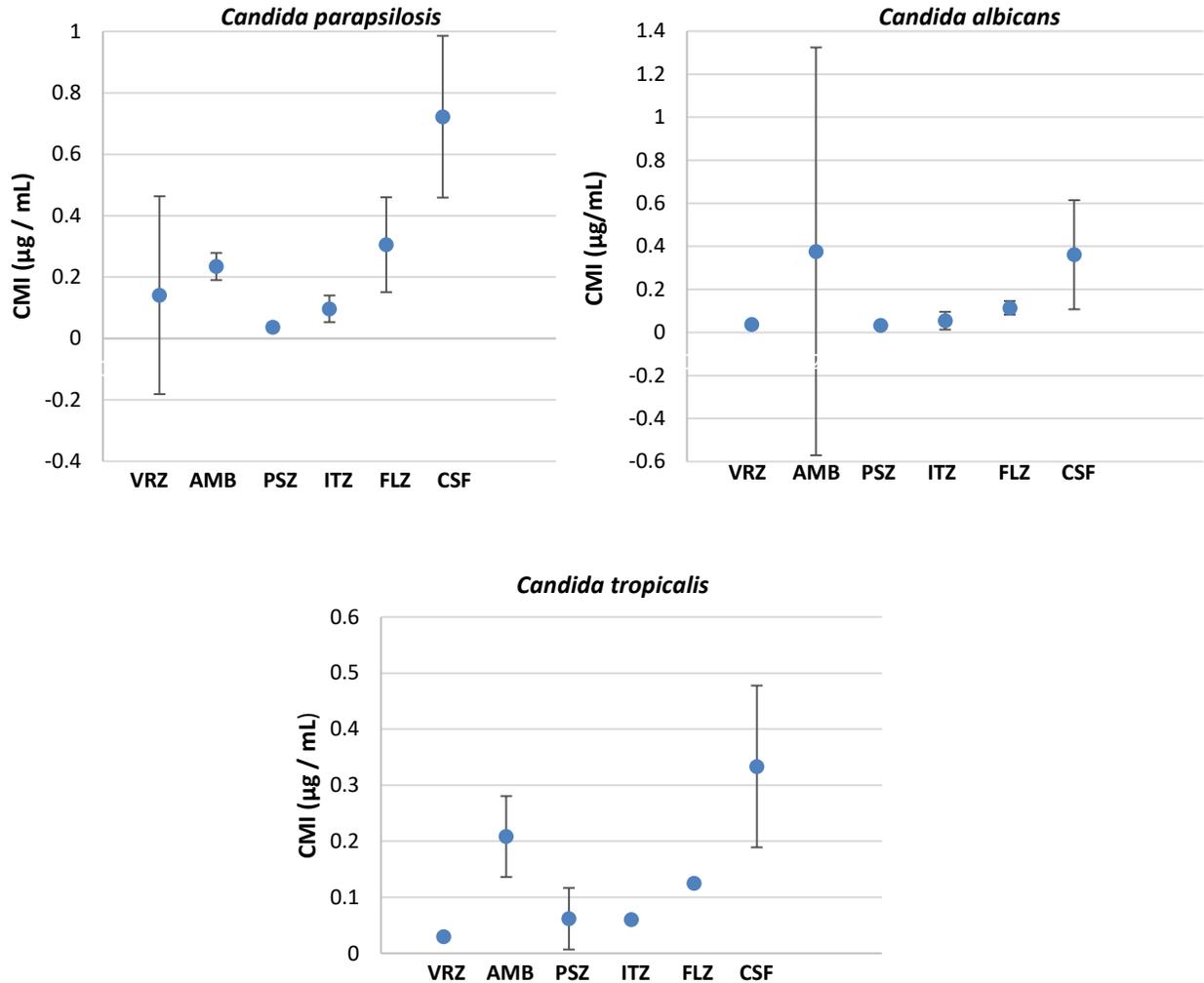


Figura 29. Representación de las medias de las CMI con cada uno de los antifúngicos sobre los aislados de muestras de SS. VRZ = voriconazol; AMB = anfotericina B; PSZ = posaconazol; ITZ = itraconazol; FLZ = fluconazol; CSF = caspofungina.

6.3.3 Comparación de la actividad de los antifúngicos los aislados de *Candida parapsilosis* de muestras de LD y SS

Tanto en los aislados de *C. parapsilosis* obtenidos de LD como en los de SS, el antifúngico con mayor actividad fue PSZ con CMI promedio de 0.030 µg/mL y 0.037 µg/mL, respectivamente, valores sin diferencia significativa (Figura 30).

El segundo y tercer antifúngicos con mayor actividad en los aislados de LD fue VRZ e ITZ con CMI promedio de 0.042 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 0.128 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectivamente. Mientras que, en los aislados de SS, los valores de CMI promedio a ITZ y VRZ fueron 0.096 $\mu\text{g}/\text{mL}$ y 0.141 $\mu\text{g}/\text{mL}$ respectivamente (Figura 30). No hubo diferencia significativa entre las CMI de VRZ y PSZ; sin embargo, si hubo diferencia significativa entre las CMI de ITZ y PSZ ($p = 0.0050$).

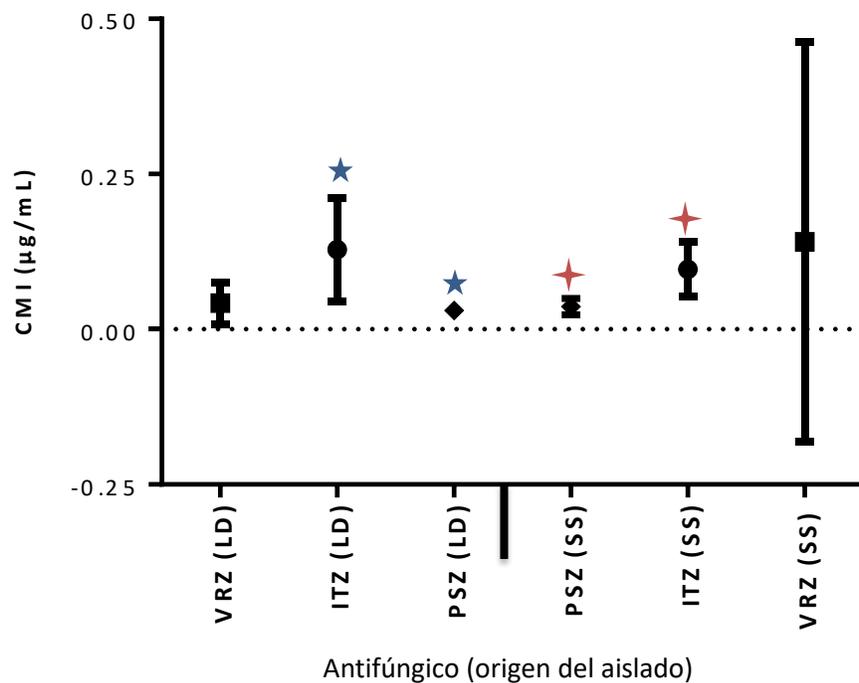


Figura 30. Comparación de las CMI de los antifúngicos en los que se observó mayor actividad frente a los aislados de *C. parapsilosis* de muestras de líquido de diálisis (LD) y de sitio de salida (SS). Las figuras en color indican las diferencias significativas ($p < 0.05$) en las CMI de los antifúngicos. VRZ = voriconazol; AMB = anfotericina B; PSZ = posaconazol; ITZ = itraconazol; FLZ = fluconazol; CSF = caspofungina; LD = líquido de diálisis; SS = sitio de salida.

6.4 Evaluación de la formación de biopelículas por el método de cristal

violeta

La evaluación de la capacidad de formación de biopelículas sobre los aislados, de acuerdo con los criterios de Stepanovic *et al.*¹⁵⁴. En el cuadro 19 se muestra la clasificación de los aislados de muestras de LD y de los de SS por especies, de acuerdo con su capacidad de producción de biopelículas.

Cuadro 19. Clasificación de aislados por su capacidad de producción de biopelículas.

Aislados de muestras de LD					
Especie	No. de aislados estudiados	Capacidad de producción de biopelícula.			
		Fuerte	Moderado	Débil	No formador
<i>C. parapsilosis</i>	8		2	2	4
<i>C. albicans</i>	1			1	
<i>C. tropicalis</i>	1	1			
<i>C. lusitaniae</i>	1			1	
<i>C. pelliculosa</i>	1				1
TOTAL	12	1	2	4	5
Aislados de muestras de SS					
Especie	No. de aislados estudiados	Capacidad de producción de biopelículas.			
		Fuerte	Moderado	Débil	No formador
<i>C. parapsilosis</i>	9	1	1	2	5
<i>C. albicans</i>	9		2	7	
<i>C. tropicalis</i>	3	2	1		
TOTAL	21	3	4	9	5

El 58.33 % de los aislados obtenidos de LD fueron clasificados como formadores de biopelículas, de los cuales solo 1 (8.33 %) se comportó como fuerte formador y correspondió a *C. tropicalis*. Por otro lado, el 76.2 % de los aislados de SS fueron clasificados como formadores de biopelículas, de los cuales 3 (14.30 %) se comportaron como fuertes formadores (2 de *C. tropicalis* y 1 de *C. parapsilosis*). En la figura 31 se muestra el aspecto de las biopelículas formadas por algunos de los aislados.

En general, las especies aisladas de los dos tipos de muestras se clasificaron de la siguiente manera:

- *Candida tropicalis*: fuerte formador de biopelículas
- *Candida albicans*: Moderado formador y débil formador
- *Candida parapsilosis*: Débil formador y no formador
- *Candida lusitanae*: Débil formador
- *Candida pelliculosa*: No formador

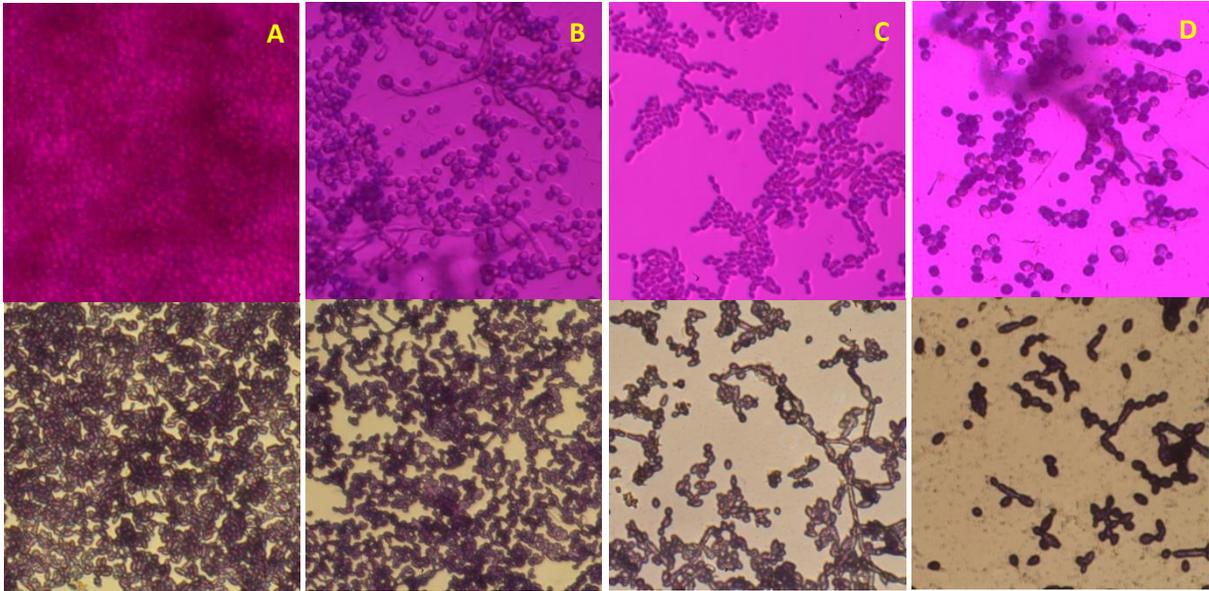


Figura 31. Biopelícula desarrollada por A) *C. tropicalis* (284MG), fuerte; B) *C. albicans* (9LM), moderado; C) *C. parapsilosis* (122TS), débil y D) *C. pelliculoso* (36MG), no formador.

El aislado de *C. tropicalis* (clave 284MG), clasificado como fuerte formador de biopelícula fue recuperado de la muestra de LD de un paciente con peritonitis, el cual falleció. La actividad de los antifúngicos sobre este aislado no mostró resistencia a ninguno de ellos.

7 Discusión

Mundialmente, en la última década se ha observado un aumento en la enfermedad renal crónica (ERC), principalmente relacionada al incremento en diversos factores de riesgo como DM2 e HTA. Es evidente que la ERC es un problema relevante de salud pública por la morbi-mortalidad de los pacientes y el costo de los tratamientos^{56, 96, 156, 83}. En México, estos dos factores de riesgo son importantes en la población adulta. Por ejemplo, la DM2 en mujeres ha aumentado de 9.6 a 10.3 % y en hombres se mantuvo de 8.6 a 8.4 % de 2012 a 2016. En el presente trabajo la DM2 fue el principal factor observado en los pacientes incluidos con ERC en el 87.5 %, seguido de HTA (79 %), lo cual coincide con otras publicaciones^{70, 96, 111}, aunado a la administración prolongada de antibióticos, hasta en el 60 a 80 % de los casos; aparentemente el riesgo de ERC aumenta con la edad^{18, 70, 96, 111, 173}. En el presente trabajo el 83 % de los pacientes mayores de 55 años fueron el grupo de edad más afectado y solo uno menor de 15 años, cuyos factores de riesgo incluyeron a hepatoblastoma y tratamiento con quimioterapia.

En la última década se consideró a la diálisis peritoneal continua ambulatoria (DPCA) como el tratamiento de primera elección para los pacientes con ERC en etapa terminal. En la actualidad la DPCA ha pasado a segundo lugar como tratamiento de sustitución renal en la etapa terminal de la ERC, después de la hemodiálisis (HD), debido a las infecciones observadas por la aplicación del catéter de diálisis. Estas incluyen la infección del sitio de salida del catéter (SS) y la peritonitis, ocasionadas por el descuido en los cuidados de higiene requeridos durante la realización del procedimiento de la técnica de diálisis^{2, 109, 110}.

De acuerdo con diversos reportes, las infecciones del SS y la peritonitis son causadas en mayor frecuencia por bacterias (70 – 90 %) y en menor frecuencia por hongos (3 – 15 %) ^{2, 55, 93, 104}. En el presente trabajo de las muestras analizadas de LD y del exudado de SS del catéter, de los pacientes con ERC y sometidos a tratamiento con diálisis, del 80 % de las muestras de LD, se aislaron bacterias y en el 20 %, levaduras abundantes. Mientras que, de las muestras de SS, el 99 % correspondió a bacterias y el 1 % a levaduras. Estos hallazgos fueron similares a la

descripción de otros autores ^{93, 148, 130}. De las 17 muestras (1 %) de SS, se incluyó un aislado levaduriforme obtenido específicamente del SS de catéter de HD, de acuerdo con otros reportes, no es una de las principales complicaciones en este tipo de tratamiento sustitutivo, sin embargo, es una de las más graves y se presenta en el 4 - 20 %, siendo *Staphylococcus aureus* el agente mayormente aislado ^{43, 58}.

En los años 1980's se observó que las infecciones fúngicas asociadas al catéter, aunque se presentan con baja frecuencia, incrementan la mortalidad del 5 al 40%, y la imposibilidad de continuar en el programa de DPCA, ya que de acuerdo con los criterios de las Guías de la Sociedad Internacional de Diálisis Peritoneal, se recomienda retirar el catéter en los pacientes en quienes no se observe mejoría en los primeros 5 días del tratamiento; alrededor del 40% de los pacientes con infecciones fúngicas son transferidos a HD ^{93, 116, 130}. En este estudio la mortalidad observada en pacientes con peritonitis fue del 22.2 %; y en los pacientes con infección en el SS fue de 6.6 %. El 55.5 % de los pacientes quienes presentaron peritonitis fueron transferidos a hemodiálisis, así como uno de los pacientes con infección en el SS con DPCA, mientras que el paciente con HD fue transferido a DPCA.

La mala respuesta al tratamiento antifúngico y consecuentemente el retiro del catéter se debe a la identificación equivocada de los agentes causales; además, los hongos por lo general son de lento crecimiento, lo cual dificulta el diagnóstico y la identificación, por ello es importante prolongar la incubación hasta dos semanas. Para la identificación fenotípica se debe incluir medios selectivos y de diferenciación de algunas especies como CHROMagar® *Candida*, que es un método de identificación presuntiva, la dificultad radica en la interpretación del color, por tanto, es de utilidad comparar el color con la paleta de colores de Pantone® ¹²⁹. La identificación se complementa con las características morfológicas y macroscópicas coloniales, así como las microscópicas y la asimilación a diversos sustratos con sistemas manuales (API AUX C 20) o sistema automatizado (Vitek 2).

De acuerdo con diversas publicaciones los agentes causales de infección fúngica asociados a DPCA, con mayor frecuencia son especies del género *Candida* (70 –

90 %), principalmente *Candida parapsilosis*, seguido por *C. albicans* y *C. tropicalis* ^{66, 104, 159}. Las tres principales especies que se aislaron en este estudio fueron *C. parapsilosis*, *C. albicans* y *C. tropicalis* en muestras de LD y de SS. De las muestras de LD se aisló con mayor frecuencia a *C. parapsilosis* (66.6 %), mientras que en las de SS se observó una variación donde *C. parapsilosis* y *C. albicans* se aislaron en igual porcentaje (40.9 %). La alta frecuencia de *C. parapsilosis* (9 % a 41 %) como causante de peritonitis ha sido reportada en varios estudios y atribuida aparentemente por transmisión exógena, ya que es un comensal habitual del cuerpo humano. Esta especie representa la levadura más comúnmente aislada de las manos de individuos sanos y de los trabajadores del área de la salud, por ello, las infecciones causadas por este complejo de especies pueden ocurrir sin previa colonización y ser frecuentemente transmitida de manera horizontal por fuentes contaminantes externas; otra explicación sería la ventaja selectiva que posee al desarrollarse en medios con alta concentración de glucosa, además de su alta afinidad por colonizar diversos dispositivos médicos, como catéteres, factor de alta relevancia para el establecimiento de las infecciones por *C. parapsilosis*, incluso más que *C. albicans* ^{37, 123, 157}.

Otro de los hallazgos interesantes en el presente estudio fue la asociación de especies, en dos muestras de SS (*C. albicans* – *C. tropicalis* y *C. albicans* – *C. parapsilosis*) y la asociación de dos morfotipos (rugoso y liso) de *C. parapsilosis*, en 2 muestras de LD y en 3 de SS. En todos los casos el morfotipo rugoso fue observado a las dos semanas de incubación. Aparentemente las infecciones por especies asociadas fueron más severas que las de una sola especie o morfotipo, ya que se observó que uno de los dos pacientes que falleció por peritonitis, presentó infección por los dos morfotipos de *C. parapsilosis*; y el paciente con infección del SS correspondió a una infección por *C. albicans* y *C. parapsilosis*, con desenlace fatal del paciente. Por otro lado, en una muestra de líquido de diálisis obtenida en febrero de 2019, de un paciente con peritonitis, no incluido en este estudio, se observó la asociación levadura-bacteria, las cuales correspondieron a *Klebsiella pneumoniae* y *Candida parapsilosis* (Figura 31, anexo 1).

Este fenómeno de asociación no ha sido reportado en ningún caso de peritonitis por hongos. Los cambios en la morfología colonial en *C. parapsilosis*, están ligados a un conjunto específico de aminoácidos, particularmente la citrulina (producido a partir de L-ornitina y carbamoil-fosfato en la ruta de biosíntesis de arginina), de tal modo que se han observado cuatro diferentes morfotipos: la morfología celular rugosa, concéntrica, lisa y crateriforme; en los morfotipos rugoso y concéntrico se observan principalmente pseudohifas, mientras que en los morfotipos crateriforme y liso se observan principalmente blastoconidios ^{25, 87, 162}. A diferencia de lo descrito por otros autores los morfotipos que se observaron en este estudio fueron el liso y el rugoso; en el liso se observó pseudohifas cortas y blastoconidios y en el rugoso pseudohifas largas y en disposición arboriforme o aracniforme y en menor número blastoconidios.

Otra de las características relevantes en los hongos es conocer el perfil que presentan ante los diversos antifúngicos; en este estudio los antifúngicos que mostraron la mejor actividad independientemente de la especie, fueron PSZ y FLZ; todos los aislados fueron sensibles a estos triazoles, la mayoría a las concentraciones más bajas de CMI; esto difiere con estudios en los que se ha reportado resistencia de 2 % a 12 %. Aproximadamente el 10 % relacionado a pacientes con SIDA y candidosis mucocutánea por *C. albicans*, especialmente antes del surgimiento de la terapia antirretroviral combinada ^{68, 135}. Existen otros estudios en los que se ha reportado buena actividad de estos azoles frente a especies de *Candida*, como las incluidas en este estudio ^{17, 26, 44, 63, 105}. Sin embargo, con AMB fue el efecto contrario, ya que mostró menor actividad (21.2 %) frente a los aislados, a diferencia de lo observado en otros estudios, donde la sensibilidad fue del 100 % y 80 % a AMB y CSF, respectivamente ^{14, 44, 105, 135, 145}.

Los dos triazoles de segunda generación (PSZ y VRZ) fueron los antifúngicos con la mayor actividad frente a *C. parapsilosis* y *C. albicans*, similar a lo reportado en otros estudios. Otro hallazgo interesante que describieron en *C. albicans* fue la resistencia principalmente a FLZ ^{17, 26, 52}, a diferencia de lo observado en este trabajo, donde el 100 % de los aislados fueron sensibles; sin embargo, esta especie

mostró un porcentaje de resistencia importante a AMB (40 %). En dos de los aislados de *C. albicans*, presentó resistencia a AMB y VRZ (99LM) y en otro (92MG) resistencia a AMB y CSF (10 %). Anfotericina B y CSF fueron los antifúngicos con menor actividad frente a *C. parapsilosis*, con un porcentaje de resistencia de 17.6 % y 11.7 %, respectivamente.

Los microorganismos, desarrollan mecanismos de supervivencia, para tolerar condiciones ambientales y nutricionales adversas. Un ejemplo, sería la capacidad de desarrollar biopelículas, mecanismo importante asociado al catéter de diálisis. En este dispositivo inicia la colonización de los microorganismos y el establecimiento de la infección. Algunos autores han observado que *C. albicans* tiene mayor capacidad que otras especies de *Candida no albicans* para formar biopelículas, las cuales son más complejas ^{74, 91}, sin embargo, en otros estudios reportan que *C. parapsilosis* puede adherirse a las células epiteliales bucales y con mucho mayor adhesividad al material acrílico ^{123, 131}; en el presente estudio, *C. albicans* se clasificó como moderado formador de biopelículas y a *C. parapsilosis* como débil formador y no formador, sin embargo, esta última fue la especie mayormente aislada, esto está asociado a la capacidad de adaptarse a la exposición de diferentes cantidades de glucosa. Pereira L, *et al.* en 2015 demostraron que la expresión del gen OLE1 sufre una regulación positiva con el aumento de glucosa, de tal modo que las biopelículas formadas en medios con alta concentración exhiben más pseudohifas y niveles de expresión del gen mayores que aquellas cultivadas en medios pobres en glucosa ¹³¹. La especie que mostró la mayor capacidad para formar biopelículas fue *C. tropicalis*, similar a la descripción de otros autores ^{108, 173}.

Actualmente es importante introducir en los laboratorios de rutina de microbiología las pruebas de identificación de levaduras, para ampliar el conocimiento de estos microorganismos, desde el punto de vista clínico, micológico, epidemiológico y del perfil de sensibilidad antifúngica. Aun se requiere un consenso general para acortar el tiempo para la obtención de resultados, con la finalidad de que el médico pueda establecer el tratamiento más adecuado para el paciente.

8 Conclusiones

- El grupo de edad más afectado con ERC en etapa terminal y en tratamiento con DPCA fue los pacientes mayores de 55 años.
- La diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial y tratamiento con antibióticos fueron los tres principales factores de riesgo asociados a ERC.
- *Candida parapsilosis* fue la principal especie de *Candida* causante de peritonitis en pacientes con ERC en tratamiento con DPCA.
- *Candida parapsilosis* y *C. albicans* fueron las dos principales especies causantes de infección en el sitio de salida del catéter en pacientes con ERC en tratamiento con DPCA.
- Todos los aislados fueron sensibles a PSZ y FLZ.
- Los dos antifúngicos con la mejor actividad sobre los aislados de *C. parapsilosis* fueron PSZ y VRZ.
- Los aislados mostraron resistencia principalmente a AMB, seguido VRZ y CSF.
- Más de la mitad de los aislados mostraron capacidad para formar biopelículas, de los cuales el 12.12 % fueron clasificados como fuertes formadores de biopelículas.
- *Candida tropicalis* fue la principal especie con fuerte formación de biopelículas.

9 Abreviaturas

° C	Grados Celsius
µg	Microgramo
µL	Microlitro
µm	Micrómetro
a.C.	Antes de Cristo
ADS	Agar dextrosa Sabouraud
ADS – A	Agar dextrosa Sabouraud con antibiótico
AMB	Anfotericina B
API	Índice analítico de perfil
Cel.	Células
CIRC	Centro de administración de pacientes con insuficiencia renal crónica
CLSI	Instituto de estandarización de laboratorios clínicos
CMI	Concentración mínima inhibitoria
CSF	Caspofungina
CV	Cristal violeta
DM	Diabetes mellitus
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DMSO	Dimetilsulfóxido
DO	Densidad óptica
KDOQI	Iniciativa de calidad de los resultados de la enfermedad renal
DP	Diálisis peritoneal
DPA	Diálisis peritoneal automatizada
DPCA	Diálisis peritoneal continua ambulatoria
DPI	Diálisis peritoneal intermitente
DS	Desviación estándar
EPIRCE	Estudio epidemiológico de la insuficiencia renal en España
ERC	Enfermedad renal crónica
EUA	Estados Unidos de América
EUCAST	Comité europeo de pruebas de sensibilidad antimicrobiana
FDA	Food and drug administration
FLZ	Fluconazol
h	Horas
HD	Hemodiálisis
HTA	Hipertensión arterial

IMSS	Instituto Mexicano del Seguro social
IRC	Insuficiencia renal crónica
ISSSTE	Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado
ITZ	Itraconazol
LD	Líquido de diálisis
min	Minuto
mg	Miligramo
mL	Mililitro
m ²	Metro cuadrado
mm ³	Milímetro cúbico
MOPS	Ácido morfolino propano sulfónico
NHANESIII	Third National health and nutrition examination survey
NKF	Fundación nacional del riñón
nm	Nanómetros
NP	No procesado
PBS	Phosphate Buffered Saline
PCR	Reacción en cadena de polimerasa
PCR – FRLP	PCR - Fragmentos de restricción de longitud polimórfica
PF	Peritonitis fúngica
pH	Potencial de hidrógeno
pmh	Por millón de habitantes
PSZ	Posaconazol
R	Resistente
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
S	Sensible
SDD	Sensible dosis dependiente
SPE	Sustancia polimérica extracelular
SS	Sitio de salida
SSI	Solución salina isotónica
TFG	Tasa de filtración glomerular
UFC	Unidad formadora de colonia
VRZ	Voriconazol

10 Anexos

10.1 Anexo 1.

Aislado obtenido de paciente masculino de 77 años con ERC, en etapa terminal, en tratamiento con DPCA, el cual cursaba con peritonitis causada por *Klebsiella pneumoniae* y *Candida parapsilosis*, en febrero de 2019.

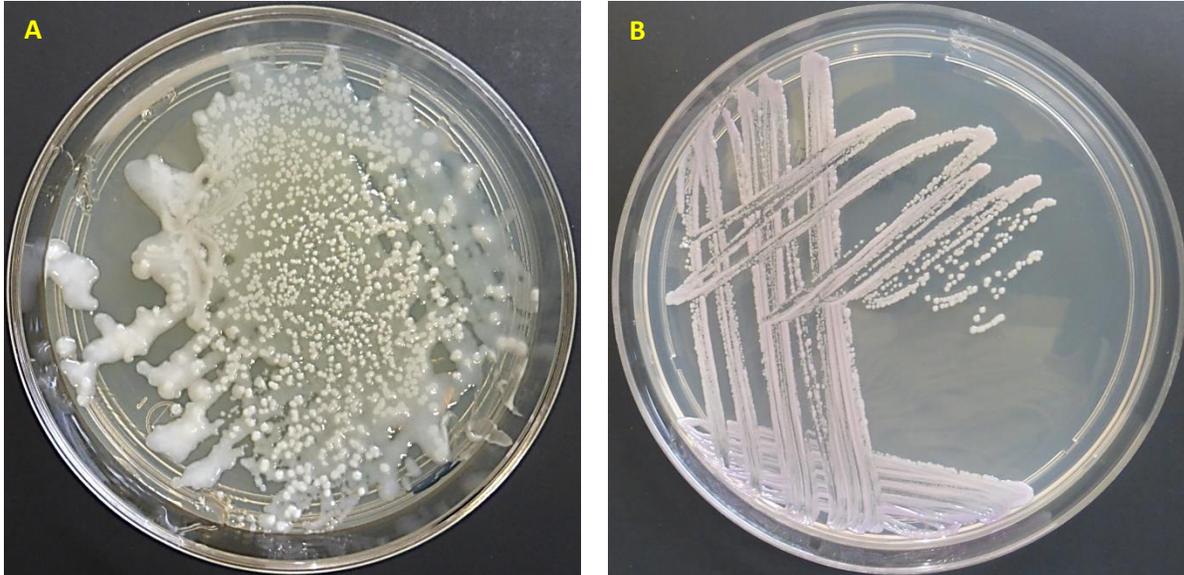


Figura 32. A) Asociación hongo-bacteria en paciente con peritonitis. B) *Candida parapsilosis* aislada.

10.2 Anexo 2. Medios de cultivo

Agar dextrosa Sabouraud (ADS)

Componentes

Agar	15.0 g
Dextrosa	40.0 g
Digerido pancreático de caseína	5.0 g
Digerido peptídico de tejido animal	5.0 g
Agua destilada	1000 mL

Preparación

- 1) Adicionar todos los componentes en 1000 mL de agua destilada
- 2) Calentar hasta ebullición y con agitación constante hasta la disolución de todos los reactivos.
- 3) Esterilizar en autoclave a 121° C, por 15 minutos.
- 4) Distribuir el medio ADS en cajas Petri estériles y dejar solidificar.
- 5) Almacenar a 4° C.

Agar dextrosa Sabouraud con antibióticos (ADS – A)

Componentes

Agar	15.0 g
Dextrosa	40.0 g
Digerido pancreático de caseína	5.0 g
Digerido peptídico de tejido animal	5.0 g
Cicloheximida	0.5 g
Cloranfenicol	0.05 g
Agua destilada	1000 mL

Preparación

- 1) Adicionar todos los componentes en 1000 mL de agua destilada
- 2) Calentar hasta ebullición y con agitación constante hasta la disolución de todos los reactivos.
- 3) Esterilizar en autoclave a 121° C, por 15 minutos.
- 4) Distribuir el medio ADS – A en cajas Petri estériles y dejar solidificar.
- 5) Almacenar a 4 °C.

CHROMagar® Candida

Componentes

Agar	15.0 g
Cromopeptona	10.2 g
Mezcla cromógena	22.0 g
D-glucosa	20.0 g
Cloranfenicol	0.5 g
Agua destilada	1000 mL

Preparación

- 1) Adicionar todos los componentes en 1000 mL de agua destilada
- 2) Calentar hasta ebullición y con agitación constante hasta la disolución de todos los reactivos.
- 3) Esterilizar por ebullición por 2 minutos.
- 4) Distribuir el medio CHROMagar® Candida en cajas Petri estériles y dejar solidificar.
- 5) Almacenar a 4 °C.

Agar MacConkey

Componentes

Agar	13.5 g
Peptona de carne	1.5 g
Peptona de gelatina	17.0 g
Tripteína	1.5 g
Mezcla de sales biliares	1.5 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Rojo neutro	0.03 g
Cristal violeta	0.001 g
Lactosa	10.0 g
Agua destilada	1000 mL

Preparación

- 1) Adicionar todos los componentes en 1000 mL de agua destilada
- 2) Calentar hasta ebullición y con agitación constante hasta la disolución de todos los reactivos.
- 3) Esterilizar en autoclave a 121° C, por 15 minutos.
- 4) Distribuir el medio MacConkey en cajas Petri estériles y dejar solidificar.
- 5) Almacenar a 4 °C.

Agar Chocolate

Componentes

Agar	15.0 g
Pluripeptona	10.0 g
Almidón	2.0 g
Fosfato dipotásico	20.0 g
Fosfato monopotásico	0.5 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Solución de hemoglobina 2 %	100 mL
Agua destilada	1000 mL

Preparación

- 1) Adicionar todos los componentes (exceptuando la solución de hemoglobina) en 1000 mL de agua destilada.
- 2) Calentar hasta ebullición y con agitación constante hasta la disolución de todos los reactivos.
- 3) Esterilizar la composición de agar base y la solución de hemoglobina al 2 %, por separado, por 15 minutos a 121° C.
- 4) Enfriar las soluciones estériles a 45 – 50 °C.
- 5) Por cada 100 mL de agar base, agregar 100 mL de solución de hemoglobina a l 2 % y mezclar agitando suavemente.
- 6) Distribuir el medio Chocolate en cajas Petri estériles y dejar solidificar.
- 7) Almacenar a 4 °C.

Agar Sangre

Componentes

Agar	14.0 g
Hidrolizado pancreático de caseína	14.5 g
Hidrolizado pancreático de harina de Soja	5.0 g
Cloruro de sodio	5.0 g
Factores de crecimiento	1.5 g
Sangre desfibrinada de carnero	5 %
Agua destilada	1000 mL

Preparación

- 1) Adicionar todos los componentes (exceptuando la sangre desfibrinada de carnero) en 1000 mL de agua destilada
- 2) Calentar hasta ebullición y con agitación constante hasta la disolución de todos los reactivos.
- 3) Esterilizar en autoclave a 121° C, por 15 minutos.
- 4) En condiciones de esterilidad, agregar la sangre desfibrinada de carnero al medio esterilizado, fundido y enfriado a 45° C. Homogeneizar.
- 5) Distribuir el medio sangre en cajas Petri estériles y dejar solidificar.
- 6) Almacenar a 4° C.

Agar fécula de papa - zanahoria con Tween 80 al 1 %

Componentes

Agar	18.0 g
Fécula de papa	10.0 g
Zanahoria	10.0 g
Tween 80	10.0 mL
Agua destilada	1000 mL

Preparación

- 1) Adicionar la fécula de papa y la zanahoria en 1000 mL de agua destilada
- 2) Calentar hasta ebullición por 10 minutos y con agitación constante para la disolución de los reactivos.
- 3) Filtrar a través de gasa
- 4) Agregar el agar y Tween 80; al mismo tiempo calentar hasta la disolución del agar.
- 5) Esterilizar en autoclave a 121° C, por 15 minutos.
- 6) Distribuir el medio en cajas Petri estériles y dejar solidificar.
- 7) Almacenar a 4 °C.

Agar Mueller-Hinton

Componentes

Agar	15.0 g
Mueller-Hinton	37.0 g
Agua destilada	1000 mL

Preparación

- 1) Adicionar todos los componentes en 1000 mL de agua destilada
- 2) Calentar hasta ebullición y con agitación constante hasta la disolución de los todos los reactivos.
- 3) Esterilizar en autoclave a 121° C, por 15 minutos.
- 4) Distribuir el medio Mueller-Hinton en cajas Petri estériles.
- 5) Almacenar a 4 °C.

Amortiguador PBS

Componentes

NaCl	2.015 g
KCl	0.055 g
Na ₂ HPO ₄	0.2875 g
KH ₂ HPO ₄	0.05 g
Agua destilada	250 mL
HCl 1M	100 mL
NaOH 1M	100 mL

Preparación

- 1) Adicionar las sales en 200 mL de agua destilada y agitar hasta la disolución de los reactivos.
- 2) Ajustar el pH a 7.4 con HCl 1M o NaOH 1M añadiendo gota a gota según sea necesario.
- 3) Aforar la solución a 250 mL con agua destilada
- 4) Esterilizar por filtración con unidades de filtro de 0.45 µm.
- 5) Esterilizar en autoclave a 121° C, por 15 minutos.
- 6) Almacenar a 4 °C.

Medio RPMI 1640 con glucosa al 2 %

Componentes

Amortiguador MOPS	34.5 g
RPMI 1640	10.4 g
D-glucosa	20.0 g
Agua MilliQ	1000 mL
NaOH 1M	100 mL

Preparación

- 1) Adicionar el MOPS, la glucosa y el medio RPMI 1640 en 1000 mL de agua.
- 2) Mantener en agitación constante hasta la disolución de los todos los reactivos.
- 3) Ajustar el pH a 7 ± 0.1 con NaOH 1M.
- 4) Esterilizar por filtración con unidades de filtro de 0.2 μm .
- 5) Almacenar a 4 °C.

11 Referencias

- 1- Abi-Said D, Anaissie E, Uzun O, Raad I, Pinzcowski H, Vartivarian S. The epidemiology of hematogenous candidiasis caused by different *Candida* species. Clin Infect Dis. 1997;24(6):1122–1128.
- 2- Afrashtehfar CDM, Pineda-Pérez JA, Afrashtehfar KI. Peritonitis asociada a diálisis peritoneal. Rev Sanid Milit Mex. 2012;66(5):219–224.
- 3- Alarcón-Rosales MA. Modelo de adaptación: aplicación en pacientes con diálisis peritoneal continua ambulatoria. Rev Enferm IMSS. 2007;15(3):155–160.
- 4- Alastruey-Izquierdo A, Melhem MSC, Bonfietti LX, Rodriguez-Tudela JL. Susceptibility test for fungi: clinical and laboratorial correlations in medical mycology. Rev Inst Med Trop. Sao Paulo. 2015;57(Suppl19):S57–S64.
- 5- Al-Fattani MA, Douglas LJ. Biofilm matrix of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*: chemical composition and role in drug resistance. J Med Microbiol. 2006;55(8):999–1008.
- 6- Alvarado PD, Díaz JMC, Silva V. Identificación y susceptibilidad antifúngica de *Candida* spp aisladas de micosis invasora. Influencia del porcentaje de inhibición del crecimiento para la determinación de CIM. Rev. méd. Chile Santiago. 2002;130(4):416–423.
- 7- Álvarez E, Castillo A, Iturrieta I. Fungal peritonitis by *Thermoascus crustaceus* in a peritoneal dialysis patient from Chile. Rev Iberoam Micol. 2017;34(4):225–228.
- 8- Amato D, Álvarez-Aguilar C, Castañeda-Limones M, Rodríguez E, Ávila-Díaz M, Arreola F, et al. Prevalence of chronic kidney disease in an urban Mexican population. Kidn Internat. 2005;68(Suppl 97):S11–S17.
- 9- API@20c AUX BIOMÉRIEUX. Colombia. <http://www.biomerieux.com.co/diagnostico-clinico/apir>.
- 10- Baillie GS, Douglas LJ. Role of dimorphism in the development of *Candida albicans* biofilms. J Med Microbiol. 1999;48(7):671– 679.
- 11- Barchiesi F, Tortorano AM, Di Francesco LF, Rigoni A, Giacometti A, Spreghini E, et al. Genotypic variation and antifungal susceptibilities of *Candida pelliculosa* clinical isolates. J Med Microbiol. 2005;54:279–285.
- 12- Barnett JA, Payne RW, Yarrow D. Yeasts: characteristics and identification. 3ª ed. Reino Unido: Cambridge University press; 2000.
- 13- Baumgartner C, Freydiere AM, Gille Y. Direct identification and recognition of yeast species from clinical material by using Albicans ID and CHROMagar Candida plates. J Clin Microbiol. 1996;34(2):454–456.
- 14- Becerra VG, Carrillo NG, Plascencia A, Rivera M, Carlos C, Velarde RF, et al. Determinación de sensibilidad y CMI de caspofungina en cepas multirresistentes de *Candida albicans* y *Candida tropicalis* mediante la técnica de microdilución. Enf Inf Microbiol. 2008;28(4):142-144.

- 15- Bibashi E, Memmos D, Kokolina E, Tsakiris D, Sofianou D, Papadimitriou M. Fungal peritonitis complicating peritoneal dialysis during an 11-year period: report of 46 cases. *Clin Infect Dis.* 2003;36(7):927– 931.
- 16- Bizerra FC, Nakamura CV, De Poersch C, Estivalet STI, Borsato QRM, Goldenberg S, *et al.* Characteristics of biofilm formation by *Candida tropicalis* and antifungal resistance. *FEMS Yeast Res.* 2008;8:442–450.
- 17- Blanco MT, Cañadas J, García-Martos P, Marín P, García-Tapia A, Rodríguez MJ. Actividad in vitro de posaconazol, fluconazol, itraconazol, ketoconazol y voriconazol frente a *Candida glabrata*. *Rev Esp Quimioter.* 2009;22(3):139–143.
- 18- Borrego FJ, Selgas R. Papel del fluconazol en las peritonitis fúngicas de pacientes en diálisis peritoneal continua ambulatoria. *Nefrol.* 1992;7(2):105–108.
- 19- Brandt ME, Lockhart Shawn R. Recent taxonomic developments with *Candida* and other opportunistic yeasts. *Curr Fungal Infect Rep.* 2012;6:170–177.
- 20- Bren A. Fungal peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1998;17:839–843.
- 21- Bruder-Nascimento A, Camargo CH, Sugizaki MF, Sadatsune T, Montelli AC, Mondelli AL, *et al.* Species distribution and susceptibility profile of *Candida* species in a Brazilian public tertiary hospital. *BMC Research Notes.* 2010;3(1):1–5.
- 22- Buesching WJ, Kurek K, Roberts GD. Evaluation of the modified API 20C system for identification of clinically important yeasts. *J Clin Microbiol.* 1979;9(5):565–569.
- 23- Calderone RA, Corneliues JC. *Candida* and candidosis. 2ª ed. United States of America: American Society for microbiology Press; 2012. pp. 23–30.
- 24- Calderone RA, Fonzi WA. 2001. Virulence factors of *Candida albicans*. *Trends Microbiol.* 2001;9(7):327–35.
- 25- Canónico González Yolanda. Marcadores moleculares específicos de *Candida parapsilosis*. [Tesis de maestría]. Facultad De Ciencias Biológicas: Universidad Autónoma De Nuevo León; 2015.
- 26- Canton E, Martin E, Espinel A. Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos. En: Pemán J, Martín-Mazuelos E, Rubio-Calvo MC. Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. 2ª ed. España: Rev Iberoam Micol; 2007. pp.181–204.
- 27- Carrillo-Muñoz AJ, Abarca L, Quindós G. Métodos colorimétricos para la determinación de la sensibilidad in vitro a los antifúngicos. *Rev Iberoam.* 2001;18(4):150–155.
- 28- Casal M, Linares MJ. The comparison of six media for chlamyospore production by *Candida albicans*. *Mycopathol.* 1981;76:125–128.
- 29- Castrillón RLE, Palma RA, Padilla DMC. Biopelículas fúngicas. *Dermatol Rev Mex.* 2013;57(5):350–361.

- 30- Castrillón RLE, Palma RA, Padilla DMC. Factores de virulencia en *Candida* sp. *Dermatol Rev Mex.* 2005; 49(1):12–27.
- 31- Catalán M, Montejo JC. Antifúngicos sistémicos. Farmacodinamia y farmacocinética. *Rev Iberoam Micol.* 2006;23(1):39–49.
- 32- Chandra J, Kuhn DM, Mukherjee PK, Hoyer LL, Mccomick T, Ghannoum MA. Biofilm formation by the fungal pathogen *Candida albicans*: development, architecture, and drug resisten. *J Bacteriol.* 2001;183(18):5385–5394.
- 33- Chen CM, Ho MW, Yu WL, Wang JH. Fungal peritonitis in peritoneal dialysis patients: effect of fluconazole treatment and use of the twin-bag disconnect system. *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection.* 2004;37(2):115-120.
- 34- Chen J. Epidemiology of Hypertension and Chronic Kidney Disease in China. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2010;19(3):278–282.
- 35- Chen KH, Chang CT, Yu CC, Huang JY, Yang CW, Hung CC. *Candida parapsilosis* peritonitis has more complications than other *Candida* peritonitis in peritoneal dialysis patients. *Ren Fail.* 2006; 28(3):241–246.
- 36- Çinar S, Nedret KA, Taşkapan H, Doğukan A, Tokgöz B, Utaş C. Case Report. *Candida lusitanae* peritonitis in a patient on continuous ambulatory peritoneal dialysis. 2002;45(3-4): 120–122.
- 37- Clark TA, Slavinski SA, Morgan J, Lott T, Arthington-Skaggs BA, Brandt ME, *et al.* Epidemiologic and molecular characterization of an outbreak of *Candida parapsilosis* bloodstream infections in a community hospital. *J Clin Microbiol.* 2004;42(10):4468–4472
- 38- Clerihew L, Lamagni TL, Brocklehurst P, McGuire W. *Candida parapsilosis* infection in very low birthweight infants. 2007. DOI:10.1136/fnn.2006.097758.
- 39- Clinical and Laboratory Standards Institute. (CLSI). M27-A3 Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast; approved standart. 3°ed. United States of America: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2008.
- 40- Clinical and Laboratory Standards Institute. (CLSI). M27-S4 Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; fourth informational supplement. Wayne: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.
- 41- Censo de población y vivienda 2015. Censo intercensal. México. Instituto Nacional de Geografía y Estadística (INEGI). <https://www.inegi.org.mx/>.
- 42- Coronel F, Macía M. Indicaciones y modalidades de diálisis peritoneal. *Guías de Práctica Clínica en Diálisis Peritoneal. Nefrol.* 2016;26:1–184.
- 43- Crespo MR, Contreras AMD, Casas CR, Muñoz BI, Moreno DMC, Suanes CL. Retrospective study of the complications of temporary catheters for haemodialysis. *Rev Soc Esp Enferm Nefrol.* 2011;14(1):43 – 49.

- 44- Cuenca-Estrella M. Antifúngicos en el tratamiento de las infecciones sistémicas: importancia del mecanismo de acción, espectro de actividad y resistencias. *Rev Esp Quimioter.* 2010;23(4):169–176.
- 45- Cuenca-Estrella M, Lee-Yang W, Ciblac MA, Arthington.SBA, Mellado E, Warnock DW, et al. Comparative evaluation of NCCLS M27-A and EUCAST broth microdilution procedures for antifungal susceptibility testing of *Candida* species. *Antimicrob Agents Chemother.* 2002; 46(11):3644–3647.
- 46- Dasgupta MK. Biofilms and Infection in Dialysis Patients. *Semin Dial.* 2002;15(5):338–346.
- 47- Das R, Vaux E, Barker L, Naik R. Fungal peritonitis complicating peritoneal dialysis: report of 18 cases and analysis of outcomes. *Adv Perit Dial.* 2006.22:55–59.
- 48- De Bedout C, Gómez BL. *Candida* y candidiasis invasora: un reto continuo para su diagnóstico temprano. *Infectio.* 2010;14(Suppl 2): S159–S171.
- 49- De la Calle-Rodriguez N, Santa-Velez C, Cardona-Castro N. Factores de virulencia para la infección de tejidos queratinizados por *Candida albicans* y hongos dermatofitos. *CES Medicina.* 2012;26(1):43–55.
- 50- Del Pozo JL, Cantón E. Candidiasis asociada a biopelículas. *Rev Iberoam Micol.* 2016;33(3):176–183.
- 51- Donlan RM. Biofilms: Microbial Life on Surfaces. *Emerging Infectious Diseases.* 2002;8(9):881–890.
- 52- Dos Santos ER, Dal Forno CF, Hernandez MG, Kubiça TF, Venturini TP, Chassot F, Santurio JM, Alves SH. Susceptibility of *Candida* spp. isolated from blood cultures as evaluated using the M27-A3 and new M27-S4 approved breakpoints. *Rev. Inst. Med. Trop.* 2014;56(6):477–482.
- 53- Douglas LJ. *Candida* biofilms and their role in infection. *TRENDS in Microbiol.* 2003;11(1): 30–36.
- 54- Duarte A, Márquez A, Araujo C, Pérez C. Modalidades de la Prueba del Tubo Germinal. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología.* 2009;29:66–68.
- 55- Durán PEG, Paredes PJC, Rivera BC, Navarro ZJE. Peritonitis relacionada con diálisis peritoneal. *Med Int Mex.* 2006;22(5):395–402.
- 56- Eknoyan G, Lameire N, Barsoum R, Kai-Uwe E, Levin A, Levin N, et al. The burden of kidney disease: Improveing global outcomes. *Kidney Int.* 2004;66(4):1310–1314.
- 57- El Nahas AM, Bello AK. Chronic kidney disease: the global challenge. *Lancet.* 2005;365(9456):331–340.
- 58- Evans EG, Richardson MD. *Medical mycology. A practical approach.* Oxford: IRL PRESS; 1989.
- 59- Fariñas MC, García-Palomo JD, Gutiérrez-Cuadra M. Infecciones asociadas a los catéteres utilizados para la hemodiálisis y la diálisis peritoneal. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2008;26(8):518–526.

- 60- Fridkin SK, Kaufman D, Edwards JR, Shetty S, Horan T. Changing incidence of *Candida* bloodstream infections among NICU patients in the United States: 1995–2004. *Am Acad Pediatrics*. 2006;117(5):1680–1687.
- 61- Ganter G. Acerca de la extracción de sustancias tóxicas de la sangre mediante la diálisis. *Munch Med Wschr*. 1923; 70:1478–1480.
- 62- García-Agudo R, García-Martos P. Clinical and microbiological aspects of fungal peritonitis in peritoneal dialysis. *Nefrol*. 2009;29(6):506–517.
- 63- García-Agudo R, García-Martos P, Marín-Casanova P, Rodríguez-Iglesias M. Sensibilidad a fluconazol de levaduras de interés clínico: nuevos puntos de corte. *Rev Española Quimioter*. 2012; 25 (4);266-268.
- 64- García-Martos P, Díaz J, Castaño M, Pérez M, Marín P. Peritonitis caused by *Candida lusitanae* in patient on continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Clin Nephrol* 1991;36(1):50.
- 65- García-Martos P, García-Agudo R, Hernández MJM, Marín P, Tallero E, Mira J. Identificación de levaduras de interés clínico en el medio de cultivo CHROMagar *Candida*. *Rev Iberoam Micol*. 1998;15:131–135.
- 66- García-Martos P, Gil SF, Marín P, García-Agudo L, García-Agudo R, Tejuca F, Calle L. Fungal peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis: a 10 cases description. *Nefrología*. 2009;29(6):534–439.
- 67- Gerst JT. Detección de la resistencia a los antibióticos con los sistemas Vitek y Vitek 2 de bioMérieux. En: Salvatierra-Gonzalez R, Benguigui Y. Resistencia antimicrobiana en las Américas: magnitud del problema y su contención. Washington, D.C. – Organización Panamericana de la Salud; 2000. pp. 16–23.
- 68- Gómez QCH. *Candida* yeast's resistance to fluconazol. *Infectio*. 2010;14(Suppl2):S172–S180.
- 69- Gorostidi M, Sánchez-Martínez M, Ruilope LM, Graciani A, De la Cruz JJ, Santamaría R, *et al*. Prevalencia de enfermedad renal crónica en España: impacto de la acumulación de factores de riesgo cardiovascular. *Nefrología*. 2018;38(6):606–615.
- 70- Górriz-Teruel JL, Otero-González A. Impacto socio sanitario de la enfermedad renal crónica avanzada. *Nefrología*. 2008;(Supl 3):7–15.
- 71- Gray H, Williams PL. Gray's Anatomy: The anatomical Basis of Medicine and Surgery.
- 72- Guclu E, Soypacaci Z, Yildirim M, Kucukbayrak A, Ozdemir D. First case of continuous ambulatory peritoneal dialysis peritonitis due to *Candida sake*. *Mycoses*. 2008;52(3):280–281.
- 73- Hadfield TL, Smith MB, Winn RE, Rinaldi MG, Guerra C. Mycoses caused by *Candida lusitanae*. *Rev Infect Dis*. 1987;9(5):1006–1012.
- 74- Hawser SP, Douglas LJ. Biofilm Formation by *Candida* species on the surface of catheter materials in vitro. *Infection and Immunity*. 1994;62(3):915-921.

- 75- Hernández-Botero JS, Pérez- Cárdenas JE. Identificación de *Candida glabrata* y otras especies comunes del género *Candida* mediante el uso secuencial del medio de cultivo cromógeno y la prueba del tubo germinal. IATREIA. 2015;28(4):355–367.
- 76- Hernando AL. Historia de la Nefrología en España. Grupo editorial nefrología de la Sociedad Española de Nefrología. ISBN: 978-84-86671-85-3. Barcelona; 2012. pp. 19–20.
- 77- Herrera MC, Barbero NE, Martínez DY, Iglesias EJ. La transferencia a hemodiálisis tras una peritonitis fúngica. ¿Es la opción definitiva? Enferm Nefrol. 2016;19(4):391–393.
- 78- Hill NR, Fatoba ST, Oke JL, Hirst JA, O'Callaghan CA, Lasserson DS, *et al.* Global Prevalence of Chronic Kidney Disease – A Systematic Review and Meta-Analysis. 2016. DOI:10.5061/dryad.3s7rd.
- 79- Hospenthal DR, Beckius ML, Floyd KL, Horvath LL, Murray CK. Presumptive identification of *Candida* species other than *C. albicans*, *C. krusei* and *C. tropicalis* with the chromogenic medium CHROMagar Candida. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2006;5(1):1–5.
- 80- Housman AE, Shropshire LA. Incidence and prevalence. En: United States Renal Data System. 2010 Annual Data Report: atlas of chronic kidney disease and end-stage renal disease in the United States. Vol 2 Atlas of ESRD; 2010. http://www.usrds.org/2010/pdf/v2_02.pdf.
- 81- Jacobsen ID, Wilson D, Wächtler B, Brunke S, Naglik JR, Hube B. *Candida albicans* dimorphism as a therapeutic target. Expert Rev Anti Infect Ther. 2012;10(1):85–93.
- 82- Jha V. Current status of chronic kidney disease care in Southeast Asia. Semin Nephrology. 2009;29(5):487–496.
- 83- Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, *et al.* Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. Lancet. 2013;382(9888):260–272.
- 84- Jothiprakasham V, Sambantham M, Chinnathambi S, Vijayaboopathi S. *Candida tropicalis* biofilm inhibition by ZnO nanoparticles and EDTA. Archives of Oral Biology. 2017;73:21–24.
- 85- Kalkancı A, Dizbay M, Turan Ö, Fidan I, Yalçın B, Hirfanoğlu U, *et al.* Nosocomial transmission of *Candida pelliculosa* fungemia in a pediatric intensive care unit and review of the literature. The Turkish Journal of Pediatrics. 2010;52(1):42–49.
- 86- Khanna R, Oreopoulos DG, Vas S, McCready W, Dombros N. Fungal peritonitis in patients undergoing chronic intermittent or continuous ambulatory peritoneal dialysis. Proceedings of the European Dialysis and Transplant Association. 1980;17:291–296.
- 87- Kim SK, El BK, Ben MC. Amino acids mediate colony and cell differentiation in the fungal pathogen *Candida parapsilosis*. Microbiology 2006;152(10):2885-2894.
- 88- Kojic EM y Darouiche RO. *Candida* Infections of Medical Devices. Clinical microbiology reviews. 2004; 17:255–267.
- 89- Koneman E, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Micología. En: Diagnóstico Microbiológico. Buenos Aires, Panamericana Ed. Med; 1999. pp. 955 - 1037.

- 90- Koye DN, Shaw JE, Reid CM, Atkins RC, Reutens AT, Magliano DJ. Systematic Review or Meta-analysis Incidence of chronic kidney disease among people with diabetes: a systematic review of observational studies. 2017. DOI: 10.1111/dme.13324.
- 91- Kuhn MD, Chandra J, Mukherjee PK y Ghannoum MA. Comparison of biofilms formed by *Candida albicans* and *Candida parapsilosis* on bioprosthetic surfaces. *Infect and Immun*. 2002;70(2):878–888.
- 92- Kumar CG, Anand SK. Significance of microbial biofilms in food industry: a review. *International Journal of Food Microbiology*. 1998;42(1-2):9–27.
- 93- Kumar KV, Mallikarjuna HM, Gokulnath, Jayanthi S. Fungal peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis: The impact of antifungal prophylaxis on patient and technique outcomes. *Indian J Nephrol*. 2014;24(5):297–301.
- 94- Kwon-Chung KJ y Bennett JE. *Medical microbiology*. Philadelphia: Lea & Febiger;1992.
- 95- Ledermann W. Brief history of *Candida*, white but not so much. *Rev Chilena Infectol*. 2017;34(5):429–430.
- 96- Levey AS, Atkins R, Coresh J, Cohen EP, Collins AJ, Eckardt KU, *et al*. Chronic kidney disease as a global public health problem: Approaches and initiatives – a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes. *Kidney International*. 2007;72(3):247–259.
- 97- Levey AS, Coresh J. Chronic kidney disease. *Lancet*. 2012; 379:165–80.
- 98- Lim CSY, Rosli R, Seow HF, Chong PP. *Candida* and invasive candidiasis: back to basics. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012;31:21–31.
- 99- Liu SW, Chern CH, Yen DH, Huang CI, How CK. Abdominal wall and intraperitoneal abscesses complicating *Aspergillus* peritonitis in peritoneal dialysis. *Am J Med Sci*. 2009;337(1):56.
- 100- López MR, Méndez-Tovar LJ, Hernández-Hernández F, Castañón-Olivares LR. *Micología Médica. Procedimientos para el diagnóstico de laboratorio*. 3ª ed. México: Trillas 2012.
- 101- Macía M, Coronel F. Diálisis peritoneal: definición, membrana, transporte peritoneal, catéteres, conexiones y soluciones de diálisis. *Nefrología*. 2010. DOI: 10.3265/Nefrologia.2010.pub1.ed35.chapter185.
- 102- Mackenzie DWR. Serum tube identification of *Candida albicans*. *J Clin Pathol*. 1962; 15:563–565.
- 103- Magos CAL. Fenotipificación de aislados clínicos de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis* en tres medios diferenciales y su sensibilidad antifúngica [Tesis de licenciatura]. CD.MX., México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2012.
- 104- Manzano-Gayosso P, Hernández-Hernández F, Méndez-Tovar LJ, González-Monroy J, López-Martínez R. Fungal peritonitis in 15 patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Mycoses*. 2003;46(9-10):425–429.

- 105-Manzano-Gayosso P, Méndez-Tovar LJ, Hernández-Hernández F, López MR. La resistencia a los antifúngicos: un problema emergente en México. *Gac Méd Méx.* 2008;144(1):23 – 26.
- 106-Mattei AS, Alves SH, Severo CB, Guazzelli LS, Oliveira FM, Severo LC. Use of Mueller-Hinton broth and agar in the germ tube test. *Rev. Inst. Med. Trop.* 2014;56(6):483–485.
- 107-McGinnis MR. *Laboratory handbook of medical mycology.* New York: Academy Press; 1980.
- 108-Melo AS, Bizerra FC, Freymuller E, Arthington-Skaggs BA, Colombo AL. Biofilm production and evaluation of antifungal susceptibility amongst clinical *Candida* spp. isolates, including strains of the *Candida parapsilosis* complex. *Med Mycol.* 2011; 49(3):253–62.
- 109-Méndez-Durán A, Ignorosa-Luna MH, Pérez-Aguilar G, Rivera-Rodríguez FJ, González Izquierdo JJ, Dávila-Torres J. Estado actual de las terapias sustitutivas de la función renal en el Instituto Mexicano del Seguro Social. *Rev Med Inst Mex Seg Soc.* 2016;54(5):588–593.
- 110-Méndez-Durán A, Méndez-Bueno JF, Tapia-Yáñez T, Muñoz Montes A, Aguilar-Sánchez L. Epidemiología de la insuficiencia renal crónica en México. *Diálisis y Trasplante.* 2010;31(1):7-11.
- 111-Méndez-Durán A, Pérez-Aguilar G, Ayala-Ayala F, Ruiz-Rosas RA, González-Izquierdo JJ, Dávila-Torres J. Panorama epidemiológico de la insuficiencia renal crónica en el segundo nivel de atención del Instituto Mexicano del Seguro Social. *Dial Traspl.* 2014;35(4):148–156.
- 112-Mendoza M. Importancia de la identificación de levaduras. *Rev Soc Venez Microbiol.* 2005;25(1):13–21.
- 113-Mendoza RE, Huerta RB. Trasplante renal. *Archivos de Cardiología de México.* 2002;72(Suppl 1):S267–S270.
- 114-Merz WG. *Candida lusitanae*: frequency of recovery, colonization, infection, and amphotericin B resistance. *J Clin Microbiol.* 1984;20(6):1194–1195.
- 115-Molina P, Puchades MJ, Aparicio M, García Ramón R, Miguel A. Experiencia en peritonitis fúngica en una unidad de diálisis durante diez años. *Nefrología.* 2005;25(4):393–398.
- 116-Montenegro J. Prevención y tratamiento de la infección del orificio de salida del catéter peritoneal. *Nefrología.* 1999;19(6):502–507.
- 117-Naglik J, Albrecht A, Bader O, Hube B. *Candida albicans* proteinases and host/pathogen interactions. *Cell Microbiol.* 2004;6(10):915–926.
- 118-National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification. *Am J Kidney Dis.* 2002; 39(Suppl 1): S1-S266.
- 119-Nett J, Lincoln L, Marchillo K, Massey R, Holoyda K, Hoff B, *et al.* Putative Role of -1,3 Glucans in *Candida albicans* Biofilm Resistance. *antimicrobial agents and chemotherapy.* 2007;51(2):510–520.
- 120-Nucci M y Marr KA. Emerging fungal diseases. *Clin. Infect. Dis.* 2005; 41:521 – 526.

- 121-Ochiuzzi ME, Cataldi S, Guelfand L, Maldonado I, Arechavala A. Evaluación del sistema Vitek 2 para la identificación de las principales especies de levaduras del género *Candida*. *Rev Argent Microbiol*. 2014;46(2):107–110.
- 122-Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J clin Microbiol*. 1994;32(8):1923–1929.
- 123-Oihane GM. Complejo de especies de *Candida parapsilosis*: revisión de su epidemiología, patogenia, identificación, tipificación y sensibilidad antifúngica. [Trabajo Fin de Grado en Medicina]. Facultad de Medicina y Odontología; Leioa; 2017.
- 124-Oreopoulos DG, Robson M, Izatt S, Clayton S, De Veber GA. A simple and safe technique for continuous ambulatory peritoneal dialysis (CAPD). *Trans Am Soc Artif Intern Organs*. 1978; 24(1):484–489.
- 125-Otero A, De Francisco A, Gayoso P, García F. on behalf of the EPIRCE Study Group. Prevalence of chronic renal disease in Spain: Results of the EPIRCE study. *Nephrology*. 2010;30(1):78–86.
- 126-Outreach Working Group (ORWG) del CLS. Nuevos desarrollos en pruebas de sensibilidad antifúngica-Puntos de corte específicos para especies de *Candida* spp. en: CLSI Subcomité de pruebas de susceptibilidad antimicrobiana (AST) CLSI, boletín de noticias. 2017;12(1):10–12.
- 127-Paniagua R, Ramos A, Fabián R, Lagunas J, Amato D. Chronic Kidney Disease and Dialysis in Mexico. *Perit Dial Int*. 2007;27(4):405–409.
- 128-Pannanusorn S, Fernandez V, Römling U. Prevalence of biofilm formation in clinical isolates of *Candida* species causing bloodstream infection. *Mycoses*. 2013;56(3):264–272.
- 129-Pantone®. Find a pantone color. Carlstadt, NJ. <http://www.pantone.com/color-finder>.
- 130-Paredes PJC, Rivera BC, Durán PE, Balladares ML. Estudio bacteriológico del paciente con peritonitis debida a diálisis peritoneal continua ambulatoria en el Hospital General de México. *Med Int Mex*. 2006; 22(3):172–82.
- 131-Pereira L, Silva S, Ribeiro B, Henriques M, Azeredo J. Influence of glucose concentration on the structure and quantity of biofilms formed by *Candida parapsilosis*, *FEMS Yeast Research*, 2015;15(5):1–5.
- 132-Pfaller MA, Andes D, Arendrup MC, Diekema DJ, Espinel-Ingroff A, Alexandere BD, *et al*. Clinical breakpoints for voriconazole and *Candida* spp. revisited: review of microbiologic, molecular, pharmacodynamic, and clinical data as they pertain to the development of species-specific interpretive criteria. *Rev Diag Microbiol infect Dis*. 2011;70(3):330–343.
- 133-Pfaller MA, Messer SA, Woosley LN, Jones RN, Castanheira Mariana. Echinocandin and triazole antifungal susceptibility profiles for clinical opportunistic yeast and mold isolates collected from 2010 to 2011: Application of new CLSI clinical breakpoints and epidemiological

- cutoff values for characterization of geographic and temporal trends of antifungal resistance. *J Clin Microbiol.* 2013;51(8):2571–2581.
- 134- Popovich RP, Moncrief JW, Nolph KD, Ghods AJ, Twardowski ZJ, Pyle WK. Continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Ann Intern Med.* 1978; 88(4):449–456.
- 135- Porte L, León P, Gárate C, Guzmán AM, Labarca J, García P. Susceptibilidad a azoles y anfotericina B de aislados de *Candida* spp. Experiencia de una red de salud universitaria, entre 2004 y 2010. *Rev Chil Infect.* 2012;29(2):149-155.
- 136- Poulain D. *Candida albicans*, plasticity and pathogenesis. *Crit Rev Microbiol.* 2015;41(2):208–217.
- 137- Predari SC, De Paulis AN, Verón D, Zucchini A, Santoianni JE. Fungal peritonitis in patients on peritoneal dialysis: Twenty-five years of experience in a teaching hospital in Argentina. *Revista Argentina de Microbiología.* 2007;39:213–217.
- 138- Putnam Tracy Jackson. The living peritoneum as a dialyzing membrane. *Am J Physiol.* 1922; 63(3):548–565.
- 139- Quindos G. Epidemiology of candidaemia and invasive candidiasis. A changing fase. *Rev Iberoam Micol.* 2014; 31(1):42–48.
- 140- Ramage G, VandeWalle K, Wickes BL, López-Ribot JL. Characteristics of biofilm formation by *Candida albicans*. *Rev Iberoam Micol.* 2001; 18:163–170.
- 141- Ram R, Swarnalatha G, Neela P, Dakshina MKV. Fungal peritonitis in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis: A single-centre experience in India. *Nephron Clin Pract.* 2008;110(4):207–212.
- 142- Renukprasad YS, Indhumathi E, Gnanasambandan R, Ramprasad E, Jayakumar M. Fungal peritonitis in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients; a study from South of India. *Immunopathol Persa.* 2018;4(2): e15.
- 143- Robledo-Leal E, Adame-Rodríguez JM, González GM, Aréchiga-Carvajal ET. Differences between agar dilution, broth macrodilution (CLSI M27-A3) and E TEST (AB BIODISK) for fluconazole resistance in clinical *Candida albicans* isolates. *Rev Salud Publica Nutr.* 2012;13(2):1–8.
- 144- Rodriguez PJC, Plaza TC, Palop CL, Rodriguez PA, Rodriguez PO. Tratamiento de las peritonitis por hongos en Dialysis peritoneal a continua ambulatorial. *Nafrologia.* 1986;6(2):65–69.
- 145- Romero M, Cantón E, Pemán J, Gobernado M. Estudio de la actividad in vitro de caspofungina sobre especies de levaduras diferentes de *Candida albicans* determinado por dos métodos: M27- A2 y EUCAST. *Rev Esp Quimioterap.* 2004;17(3):257–262.
- 146- Ruiz-Camps I, y Cuenca-Estrella M. Antifúngicos para uso sistémico. *Enferm Infecc Microbiol Clin.* 2009;27(6):353–362.
- 147- Sanderson MC, Swartzendruber DJ, Fenoglio ME, Moore JT, Haun WE. Surgical complications of continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Surg.* 1990;160(6):541–545.

- 148- San Juan MP, Pérez JA, Barrietos AC. Aspectos clínicos y microbiológicos de la peritonitis asociada a diálisis peritoneal en pacientes adultos con insuficiencia renal crónica en el Servicio de Urgencias. *Rev chil Infectol.* 2018;35(3):225–232.
- 149- Santos ER, Dal Forno CF, Hernandez MG, Kubiça TF, Venturini TP, Chassot F, Santurio JM, Alves SH. Susceptibility of *Candida* spp. isolated from blood cultures as evaluated using the M27-A3 and new M27-S4 approved breakpoints. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo.* 2014;56(6):477–482.
- 150- Shang-Jyh H, Jer-Chia T, Hung-Chun C. Epidemiology, impact and preventive care of chronic kidneydisease in Taiwan. *Nephrology.* 2010; 15(2):3–9.
- 151- Silva S, Negri M, Henriques M, Oliveira R, Williams DW, Azeredo J. *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiol.* 2012;36(2):288–305.
- 152- Simitsopoulou M, Peshkova P, Tasina E, Katragkou A, Kyrpitzis D, Velegriaki A, *et al.* Species-specific and drug-specific differences in susceptibility of *Candida* biofilms to echinocandins: characterization of less common bloodstream isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2013;57(6):2562–2570.
- 153- Staniszewska M, Bondaryk M, Piłat J, Siennicka K, Magda U, Kurzątkowski W. Virulence factors of *Candida albicans*. *Przegl Epidemiol.* 2012;66(4):629–633.
- 154- Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Savic B, Švabic-Vlahovic M. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. *J Microbiol Methods.* 2000;40(2):175–9.
- 155- Steven J, Peitzman MD. Nephrology in the United States from osier to the Artificial Kidney. *Annals of Internal Medicine.* 1986; 105(6):937–946.
- 156- Tamayo OJA, Lastiri QH. Santiago. La enfermedad renal crónica en México hacia una política nacional para enfrentarla. Academia Nacional de Medicina de México (ANMM), 2016. ISBN 978-607-443-632-7.
- 157- Tapia C, Correa N. *Candida parapsilosis* complex. *Rev Chilena Infectol.* 2015;32(5):569–570.
- 158- Tapia PCV. Actualización en pruebas de susceptibilidad antifúngica. *Rev Chil Infect.* 2009; 26(2):144–150.
- 159- Tatli E, Meltem G, Aydın Z, Uzun S, Karadağ S, Cebeci E, *et al.* Peritonitis due to *Candida guilliermondii* in a patient on continuous ambulatory peritoneal dialysis. 2015 DOI: 10.4274/haseki.2311.
- 160- Tavanti A, Davidson AD, Gow NAR, Maiden MCJ, Odds FC. *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp. nov. To Replace *Candida parapsilosis* Groups II and III. *J clin microbiol.* 2005;43(1):284–292.
- 161- Tornai-Lehoczki J, Peter G, Dlačhy D. CHROMagar *Candida* medium as a practical tool for the differentiation and presumptive identification of yeast species isolated from salads. *Intern J Food Microbiol.* 2003; 86(1-2):189–200.

- 162-Treviño-Rangel RJ, González-González JG, Garza-González E, González GM. *Candida parapsilosis*, una amenaza desafiante. *Medicina Universitaria*. 2012;14(56):157–165.
- 163-Trofa D, Gácsér A, Nosanchuk JD. *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clin.Microbiol Rev*. 2008;21(4):606–625.
- 164-Troidle L, Brenan NG, Kliger A, Finkelstein FO. Continuous peritoneal dialysis-associated peritonitis: a review and current concepts. *Semin Dial*. 2003;16(6):428–437.
- 165-Valene J, Rappaport W. Continuous ambulatory peritoneal dialysis associated with peritonitis in older patients. *Am J Surg*. 1990;159(6):579–581.
- 166-Vitek®2 BIOMÉRIEUX. Colombia. <https://www.biomerieux.com.co/diagnostico-clinico/vitek-2>.
- 167-Warrick C. An Improvement on the practice of tapping; whereby that operation, instead of a relief for symptoms, becomes an absolute cure for an ascites, exemplified in the case of Jane Roman; and recommended to the consideration of the Royal Society, by Christopher Warrick, of Truro, Surgeon. *Phil Trans*.1744;43(473):12-19.
- 168-Wong PN, Mak SK, Lo KY, Tong GM, Wong AK. A retrospective study of seven cases of *Candida parapsilosis* peritonitis in CAPD patients: the therapeutic implications. *Perit Dial Int*. 2000;20(1):76–79.
- 169-Xie Y, Chen X. Epidemiology, major outcomes, risk factors, prevention and management of chronic kidney disease in China. *Am J Nephrol*. 2008;28(1):1–7.
- 170-Yang YL. Virulence factors of *Candida* species. *J Microbiol Immunol Infect*. 2003;36:223–228.
- 171-Yong PVC, Chong PP, Lau LY, Yeoh RSC, Jamal F. Molecular Identification of *Candida orthopsilosis* Isolated from Blood Culture. *Mycopathologia*. 2008;165:81–87.
- 172-Yuen KY, Seto WH, Ching TY, Cheung WC, Kwok Y, Chu YB. An outbreak of *Candida topocalis* peritonitis in patients on intermittent peritoneal dialysis. *J Hosp Infect*. 1992;22(1):65–72.
- 173-Zabicky LJ. Biopelículas formadas por especies de *Candida* en cuatro tipos de catéteres y su sensibilidad a tres antifúngicos [Tesis de maestría]. CD.MX., México: Universidad Nacional Autónoma de México; 2017.
- 174-Zarnowski R, Westler WM, Lacmbouh GA, Marita JM, Bothe JR, Bernhardt J, *et al*. Novel Entries in a Fungal Biofilm Matrix Encyclopedia. *mBio*; 2014;5(4):e01333-14 doi: 10.1128/mBio.01333-14.
- 175-Zuluaga A, Arango-Bustamante K, Caceres DH, Sánchez-Quitian ZA, Velásquez V, Gómez BL, Parra-Giraldo CM, Maldonado N, Cano LE, De Bedout C, Rivera RE. Análisis de concordancia de diferentes metodologías para la identificación de aislamientos orales de especies de *Candida*. *Colombia Médica*. 2018;49(3):160–167.