

Artículo original

Candidemias en un hospital general de la Ciudad de México: estudio de sensibilidad a antifúngicos con el método de microplaca colorimétrica y microdilución en caldo

Yamilett Morales Mendoza,¹ David Moncada Barrón,² Sara Arroyo Escalante,² María del Carmen Sánchez,² Patricia Manzano Gayosso,⁴ Roberto Arenas³

RESUMEN

Antecedentes: la candidiasis invasiva representa un importante problema clínico-epidemiológico en pacientes críticamente enfermos y en inmunodeprimidos, con altas tasas de mortalidad. En las últimas décadas se ha visto el surgimiento de nuevas especies de *Candida*, en especial *Candida no-albicans*.

Objetivos: conocer la frecuencia de las especies de *Candida* en hemocultivos y el perfil de sensibilidad a antifúngicos.

Material y método: estudio retrospectivo, transversal, observacional y descriptivo, efectuado en el Hospital General Dr. Manuel Gea González de 2008 a 2009, en aislamientos de *Candida* en hemocultivos para determinar el perfil de sensibilidad a antifúngicos por dos métodos (microdilución en caldo M27-A3 del CSLI y Fungitest). Se revisaron los expedientes clínicos de 15 pacientes hospitalizados en quienes se reportó un hemocultivo positivo y se efectuó el perfil de sensibilidad a antifúngicos.

Resultados: las especies aisladas con más frecuencia fueron *C. parapsilosis* (59%), *Candida* spp (18%), *C. albicans* (2%) y *C. glabrata* (13.6%). Con el método comercial de Fungitest se reportó sensibilidad en general para ketoconazol, fluconazol y anfotericina B de 100%, para miconazol e itraconazol de 33 y 67% de sensibilidad intermedia, respectivamente. Con el medio de microdilución en caldo se encontró sensibilidad en general para anfotericina B y caspofungina de 100%, para fluconazol de 90%, para voriconazol de 80% y sensibilidad dosis dependiente de 10%, para itraconazol de 70%, para ketoconazol de 50% y para anidulafungina de 40%.

Conclusiones: desde hace dos décadas se ha observado aumento de las candidemias por especies de *Candida no-albicans*, que sobrepasan a las candidemias por *albicans*. Es de vital importancia conocer los patrones de sensibilidad a los diferentes antifúngicos para reducir la tasa de morbilidad y mortalidad en los pacientes críticamente enfermos.

Palabras clave: *Candida* spp, candidemia, hemocultivos, sensibilidad, Fungitest, microdilución en caldo.

ABSTRACT

Background: Invasive candidiasis is an important epidemiological problem especially in critically ill and immunocompromised patients, causing high mortality rates. Also, in the last decades an emergence of non-*albicans* species has been observed.

Objective: To determine the frequency and susceptibility to antifungal drugs of *Candida* species in blood cultures.

Material and methods: A retrospective, observational and descriptive study was done at General Hospital Dr. Manuel Gea González from January 2008 to December 2009. We reviewed the clinical records of the 15 hospitalized patients in whom a positive blood culture was reported and performed antifungal susceptibility to drugs using two methods: broth microdilution M27-A3 CSLI and Fungitest.

Results: The most commonly isolated species were *C. parapsilosis* (59%), *Candida* spp (18%), *C. albicans* (9%) and *C. glabrata* (13.6%). With Fungitest we observed a general susceptibility to ketoconazole, fluconazole, and amphotericin B of 100%, for miconazole and itraconazole 33% and 67% with an intermediate sensitivity. In the middle of both microdilution susceptibility was generally reported for amphotericin B and caspofungin of 100%, fluconazole 90%, voriconazole 80% and 10% dose-dependent sensitivity, itraconazole 70%, ketoconazole 50% and anidulafungin 40%.

Conclusions: In the last two decades an emergence of *Candida non-albicans* species has been observed. It is mandatory to know the different antifungal susceptibility patterns in order to reduce the morbidity and mortality rate in critically ill patients.

Key words: *Candida* spp, candidemia, blood cultures, sensitivity, Fungitest, broth microdilution.

¹ Dermatóloga pediatra, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Micología Médica.

² Sección de Micología y Microbiología.

³ Dermatólogo, jefe de la Sección de Micología. Hospital General Dr. Manuel Gea González.

⁴ Dermatóloga, Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Medicina, UNAM.

Correspondencia: Dr. Roberto Arenas. Hospital General Dr. Manuel Gea González. Tlalpan 4800, colonia Sección XVI, CP 14000, México, DF. Correo electrónico: rarenas98@hotmail.com

Recibido: noviembre, 2012. Aceptado: enero, 2013.

Este artículo debe citarse como: Morales-Mendoza Y, Moncada-Barrón D, Arroyo-Escalante S, Sánchez MC y col. Candidemias en un hospital general de la Ciudad de México: estudio de sensibilidad a antifúngicos a través del método de microplaca colorimétrica y microdilución en caldo. Dermatol Rev Mex 2013;57:155-158.

www.nietoeditores.com.mx

Las infecciones del torrente sanguíneo causadas por *Candida* han aumentado en las dos últimas décadas, su mortalidad es de 29 a 50%. Estas infecciones representan un importante problema clínico-epidemiológico en las unidades de cuidados intensivos, principalmente en pacientes inmunodeprimidos.^{1,2} En la población pediátrica ocupan el segundo lugar en fallecimientos entre todas las causas de sepsis.³

En Estados Unidos, las candidemias corresponden a la tercera causa de infecciones del torrente sanguíneo, con 19 a 24 infecciones por cada 10,000 egresados, es decir, se ha observado un aumento en la incidencia de incluso 487% en las últimas dos décadas. En cambio, en Brasil es de 1.87 casos por cada 1,000 hospitalizaciones y 0.27 casos por cada 1,000 pacientes días. En España varía de 0.2 a 10 por cada 10,000 ingresos al año, ligeramente más alta que en otros países de Europa, aunque menor que en Estados Unidos. En México, la prevalencia es de 0.71%.^{1,2,4,5}

Los factores de riesgo relacionados con las candidemias son diversos; en los pacientes pediátricos son: bajo peso, prematuridad (menor a 27 semanas), hospitalización mayor a tres semanas, aplicación de catéteres venosos centrales, asistencia ventilatoria mecánica, administración de antibióticos de amplio espectro, corticoesteroides, nutrición parenteral y procedimientos quirúrgicos.^{2,6-8}

El 10% de los pacientes con tumores sólidos o enfermedades hematológicas malignas puede padecer infecciones por *Candida*.^{3,9} El factor independiente vinculado con las candidemias es la administración de fármacos con actividad contra anaerobios durante más de tres días. Algunos autores han demostrado la asociación de más de tres factores de riesgo y la probabilidad predictiva de tener candidemia en 10 a 46%.³ Otra de las características observadas en la epidemiología de las candidemias es el incremento en las especies de *Candida* no-*albicans* como agentes causales, además del incremento en la resistencia al fluconazol. La frecuencia de resistencia a este antifúngico es de 3 a 13%, particularmente en *C. glabrata* y *C. krusei*; en cambio, en *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* es poco frecuente. Las equinocandinas (caspofungina, anidulafungina y micafungina) tienen excelente actividad *in vitro* contra *C. albicans* y *C. tropicalis*, excepto *C. parapsilosis*.^{1,2}

Candida krusei es la especie que muestra resistencia intrínseca a fluconazol, y los factores de predicción asociados con la resistencia son: enfermedades subyacentes del

hospedero, como neutropenia, enfermedad renal crónica y administración previa de fluconazol, aunque este último es un factor de riesgo independiente sólo de candidemia resistente a ese fármaco.¹⁰

Los objetivos de este estudio fueron conocer la frecuencia de las especies de *Candida* causantes de candidemias y determinar el perfil de sensibilidad a antifúngicos y las características epidemiológicas de la población analizada durante 2008 y 2009.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio retrospectivo, transversal, observacional y descriptivo efectuado en el Hospital General Dr. Manuel Gea González durante 2008 y 2009.

Se revisaron los expedientes clínicos de tres pacientes hospitalizados en los servicios de urgencias, de seis pacientes en cirugía, tres en medicina interna, dos en neonatología y uno en la unidad de cuidados intensivos, quienes mostraron crecimiento levaduriforme en los hemocultivos. Todos los aislamientos se identificaron con los siguientes procedimientos de laboratorio: Sabouraud, agar papa y CHROMagar *Candida*®.

En los 15 aislamientos se realizó el perfil de sensibilidad con dos métodos: microdilución en caldo, según el documento M27-A3 del Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio, para evaluar los siguientes antifúngicos: ketoconazol, itraconazol, fluconazol, voriconazol, posaconazol, anfotericina B, caspofungina y anidulafungina, y por el método colorimétrico (Fungitest®) se evaluaron: ketoconazol, itraconazol, fluconazol, anfotericina B, 5-fluorocitosina y miconazol.

Para el método colorimétrico se siguieron las indicaciones del proveedor. Esta técnica muestra un cambio de color del indicador del pH presente en el medio de cultivo, lo que facilita la lectura. Consiste en una galería de pocillos que incorporan concentraciones discriminantes de diversos antifúngicos (anfotericina B, fluconazol, itraconazol, ketoconazol, 5-fluorocitosina y miconazol). Cada pocillo se inocula con una suspensión de 10³ UFC/mL. La lectura se realizó a las 48 horas.

Para el método de microdilución en caldo se preparó la solución de inóculo a una concentración de 1-5 X 10⁶ UFC/mL, de cada uno de los aislamientos de 24 horas de crecimiento en agar dextrosa Sabouraud. Posteriormente se hizo una dilución en medio RPMI para obtener una

concentración de 1 a 5×10^3 . La inoculación de las placas se realizó con 100 $\mu\text{g/mL}$ de la suspensión de la levadura problema, para obtener una concentración final de 0.5-2.5 $\times 10^3$. Las placas se incubaron a 35°C durante 48 horas.

Las cepas control de calidad usadas fueron *C. parapsilosis* ATCC 29019 y *C. krusei* ATCC 6258. La lectura de la concentración mínima inhibitoria fue visual y se interpretaron los criterios de sensibilidad, sensibilidad dosis dependiente y resistencia.

Los resultados obtenidos se reportaron con estadística descriptiva.

RESULTADOS

Los aislamientos levaduriformes se obtuvieron en 53.3% de las pacientes del género femenino; el promedio de edad fue de 44.8 años (14 días a 82 años). Los factores de riesgo fueron: uso de catéter venoso central, diálisis o hemodiálisis (13 casos), aminas (10 casos), ventilación mecánica (nueve casos), nutrición parenteral (seis casos), antibióticos de amplio espectro (13 casos), insuficiencia renal (ocho casos), antecedentes quirúrgicos (siete casos), diabetes mellitus (tres casos) y prematurez con bajo peso al nacer (tres casos). El promedio de días de hospitalización fue de 47.6 días.

Las especies aisladas con más frecuencia fueron: *C. parapsilosis* (59%), *Candida* spp (18%), *C. albicans* (9%) y *C. glabrata* (13.6%).

Con el método de Fungitest la sensibilidad a ketoconazol, fluconazol y anfotericina B fue de 100%, a miconazol e itraconazol fue de 33 y 67% de sensibilidad intermedia, respectivamente.

Por el medio de microdilución en caldo la sensibilidad a anfotericina B y caspofungina fue de 100% de los aislamientos, a fluconazol de 90%, voriconazol de 80% y sensibilidad dosis dependiente de 10%, itraconazol de 70%, ketoconazol de 50% y anidulafungina de 40%; mientras que se observó resistencia antifúngica en 60 y 50% de los aislamientos a anidulafungina y ketoconazol, respectivamente.

Todos los aislamientos de *C. parapsilosis* fueron sensibles a itraconazol, fluconazol, voriconazol y posaconazol; 80% fueron sensibles a ketoconazol y 100% resistentes a anidulafungina.

El 100% de los aislamientos de *C. glabrata* fue sensible a fluconazol, 33.3% a ketoconazol; mientras que 67% lo

fue a itraconazol, posaconazol, anidulafungina y voriconazol y 33.3% fue sensible de manera dosis dependiente a voriconazol.

Los aislamientos de *C. albicans* y *Candida* spp mostraron resistencia de 100% a ketoconazol, itraconazol y posaconazol, y 100% fueron sensibles a anidulafungina y caspofungina. El 100% de los aislamientos de *C. albicans* fue resistente a fluconazol y voriconazol.

DISCUSIÓN

La candidiasis invasiva sigue siendo un problema en los pacientes inmunodeprimidos y en los que tienen factores de riesgo, dado el incremento en la mortalidad en poblaciones pediátricas y adultas.

En este estudio se observó que las candidemias predominaban en mujeres; este hallazgo es diferente a lo descrito en la bibliografía revisada. Asimismo, la relación del grupo de edad con los días de hospitalización fue mayor a lo reportado por otros autores.^{2,4,5}

Los factores de riesgo de candidemia fueron los mismos que los enlistados en la bibliografía, a saber: catéter venoso central, catéter de diálisis o de hemodiálisis, aminas, ventilación mecánica, nutrición parenteral, antibióticos de amplio espectro, insuficiencia renal, antecedentes quirúrgicos, diabetes mellitus, prematurez y bajo peso al nacer.^{2,6-8,11}

El cambio observado en las dos últimas décadas en la epidemiología de las especies de *Candida*, con aumento del aislamiento de *Candida* no-*albicans* sobre *C. albicans*, también ha implicado una modificación en la elección del antimicótico que se administrará al paciente con candidemia, principalmente por la resistencia a los antifúngicos.^{2,10}

En este estudio predominaron las especies de *Candida* no-*albicans* (91%), especialmente de *C. parapsilosis* (59%). El alto porcentaje puede deberse a que la mayor parte de los aislamientos se obtuvieron de pacientes neonatos, quienes tuvieron factores de riesgo relacionados, como nutrición parenteral total, prematurez y catéter venoso central (10/13).^{4,11} Otros estudios destacan la preponderancia de *C. tropicalis* en pacientes adultos.^{2,7,9} En este estudio se observó que una tercera parte de los aislamientos de *Candida* no-*albicans* eran resistentes a azoles, contrario a lo descrito en la bibliografía, en donde la mayor resistencia a los azoles ocurre en este grupo.⁷

Los patrones de sensibilidad encontrados aquí no coinciden totalmente con lo descrito en la bibliografía.⁴ La

sensibilidad a anfotericina B fue de 100%, que concuerda con lo publicado, mientras que la sensibilidad a voriconazol, fluconazol, itraconazol y posaconazol fue inferior. La sensibilidad a la caspofungina fue de 100%, cifra casi similar a la hallada por otros autores.⁴

La resistencia de las especies de *Candida* al fluconazol es de 3 a 13%, sobre todo de *Candida no-albicans*, y especialmente *C. glabrata*. En este estudio no hubo resistencia semejante; sin embargo, en los aislamientos de *C. albicans* se observó en 100%.¹²

Todas las especies de *C. parapsilosis* en este estudio fueron sensibles a caspofungina y resistentes a anidulafungina, lo que coincide con lo señalado en la bibliografía.¹

CONCLUSIONES

Las candidemias por especies de *Candida no-albicans* en las dos últimas décadas sobrepasan la frecuencia de candidemias causadas por *C. albicans*, lo que, aunado al incremento en la resistencia a los azoles, resulta en un problema mayor para el paciente con diversos factores de riesgo que es hospitalizado. Es importante conocer la epidemiología y los patrones de sensibilidad en los hospitales, para intervenir de manera rápida y efectiva instaurando tratamientos preventivos, profilácticos y terapéuticos adecuados que disminuyan la tasa de mortalidad en los pacientes críticamente enfermos con factores de riesgo de candidemias.

REFERENCIAS

1. Gómez J, García-Vázquez E, Hernández A, Espinosa C, Ruiz J. Candidemias nosocomiales: nuevos retos de un problema emergente. *Rev Esp Quimioter* 2010;23:158-168.
2. Ajenjo M, Aquevedo A, Guzmán A, Poggi H, et al. Perfil epidemiológico de la candidiasis invasora en unidades de pacientes críticos en un hospital universitario. *Rev Chil Infect* 2011;28:118-222.
3. Zaoutis T, Prasad P, Localio R, Coffin S, et al. Risk factors and predictors for candidemia in pediatric intensive care unit patients: implications for prevention. *Clin Infect Dis* 2010;51:e38-e45.
4. Lopes A, Madeira G, Lóbregra J, Nascimento M, Rossi F. Candidemia epidemiology and susceptibility profile in the largest Brazilian teaching hospital complex. *Braz J Infect Dis* 2010;14:441-448.
5. Esteves A, Martínez E, Tenorio I, Arroyo S, et al. Prevalencia de hemocultivos positivos para *Candida sp*. Distribución de levaduras aisladas de pacientes internados en un hospital de segundo nivel de la Ciudad de México. *Dermatol Rev Mex* 2009;53:3-6.
6. Tiraboschi I, Carnovale S, Benetucci A, Fernández N, et al. Brote de candidemia por *Candida albicans* en neonatología. *Rev Iberoam Micol* 2007;24:263-267.
7. Conde-Rosa A, Amador R, Pérez-Torres D, Colón E, et al. Candidemia distribution, associated risk factors, and attributed mortality at a university-based medical center. *P R Health Sci J* 2010;29:26-29.
8. Cortés J, Concha A, Cediel L, Castillo J. Métodos diagnósticos en candidemia: una revisión sistemática de la literatura con meta-análisis. *Rev Chil Infect* 2011;28:423-442.
9. Mikulska M, Bassetti M, Ratto S, Viscoli C. Invasive candidiasis in non-hematological patients. *Mediterr J Hematol Infect Dis* 2011;3:1-8.
10. Garnacho-Monteron J, Díaz-Martín A, García-Cabrera E, Ruiz M, et al. Risk factors for fluconazole-resistant candidemia. *Antimicrob Agents Chemother* 2010;3149-3154.
11. Hernández-Castro R, Arroyo-Escalante S, Carrillo-Casas, Moncada-Barrón D, et al. Outbreak of *Candida parapsilosis* in a neonatal intensive care unit: a health care works source. *Eur J Pediatr* 2010;169:783-787.
12. Reboli A, Shorr A, Rotstein C, Pappas O, et al. Anidulofungin compared with fluconazole for treatment of candidemia and other forms of invasive candidiasis caused by *Candida albicans*: a multivariate analysis of factor associated with improved outcome. *BMC Infect Dis* 2011:1-8.