



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

IDENTIFICACIÓN DE *Candida* spp. AISLADAS EN HEMOCULTIVOS
DE PACIENTES DE RETÉN, UTILIZANDO EL MEDIO CHROMAGAR,
Y SUSCEPTIBILIDAD A FLUCONAZOL Y VORICONAZOL.
CUMANÁ, ESTADO SUCRE
(Modalidad: Tesis de Grado)

BETZAIDE KIMBERLIS MORALES TORREALBA

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2012

IDENTIFICACIÓN DE *Candida* spp. AISLADAS EN HEMOCULTIVOS
DE PACIENTES DE RETÉN, UTILIZANDO EL MEDIO CHROMAGAR, Y
SUSCEPTIBILIDAD A FLUCONAZOL Y VORICONAZOL.
CUMANÁ, ESTADO SUCRE

APROBADO POR:

Prof. Josefa Díaz
Asesor

Lcda. Mary Carmen Gómez
Coasesor

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	ii
LISTA DE TABLAS	iii
LISTA DE FIGURAS	iv
RESUMEN.....	v
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	8
Población.....	8
Muestra poblacional.....	8
Recolección y procesamiento de la muestra	8
Cultivo, aislamiento y purificación.....	8
Cultivo en el medio CHROMagar	9
Estudio morfológico.....	9
Observación microscópica	11
Prueba de susceptibilidad antimicótica	11
Análisis estadístico.....	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
CONCLUSIONES	24
RECOMENDACIONES.....	25
BIBLIOGRAFÍA	26
ANEXOS	32
HOJA DE METADATOS	36

DEDICATORIA

A

Dios, ser supremo que nos ilumina y nos fortalece día a día.

Mis padres, María Isabel Torrealba y Juan Antonio Morales, por ser la razón de mi vida y apoyarme siempre. Los amo con todo mi corazón.

Mi hermana Yexica Morales, por su apoyo y consagración en cada momento de mi vida. Este triunfo también es tuyo.

Mi hermana Lorianny Morales, que hoy comparte conmigo esta alegría y que este triunfo le sirva de inspiración para lograr sus sueños.

Mi sobrino Genaro Antonio, por llenar de vida mis días.

Todos mis profesores y compañeros de estudio, en especial: Rosadela Rodríguez, Luinor Boada, Yasandry García, Patricia Vásquez, Zulmary Guzmán por apoyarme y acompañarme en este sueño.

Luisa Mundaray, Leidy Benitez, por su estímulo constante.

Todas aquellas personas que de una u otra forma contribuyeron a mi formación profesional.

AGRADECIMIENTO

A

La licenciada Josefa Díaz mi asesora, por brindarme sus conocimientos, su confianza y su valiosísimo apoyo sin el cual no hubiese sido posible la realización de mi trabajo de grado.

Mi hermana Yexica Morales, por su gran aporte en el desarrollo de esta investigación.

La licenciada Mary Carmen Gómez y Yenny Mujica por la colaboración prestada.

La profesora Luzmary Marcano, por su apoyo en el desarrollo de la parte estadística de este trabajo de grado.

El licenciado Genaro González y Miguel González por la colaboración brindada.

Todo el personal del laboratorio de Micología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, por su colaboración y por estar siempre dispuestos a ayudar en todo lo posible.

A todos Muchas Gracias.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Aislamiento de <i>Candida</i> spp. en hemocultivos provenientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Febrero-julio de 2010.....	13
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Distribución porcentual de <i>Candida</i> spp. aisladas de hemocultivos, utilizando el medio CHROMagar, provenientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Febrero-julio de 2010.....	14
Figura 2. Susceptibilidad de los aislados de <i>Candida</i> spp., provenientes de hemocultivos de pacientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Febrero-julio de 2010.....	17
Figura 3. Diámetro del halo de inhibición de los aislados de <i>Candida</i> spp., detectado por el método de difusión en agar, A y C: <i>Candida</i> spp. contra voriconazol; B y D: <i>Candida</i> spp. contra fluconazol.....	18
Figura 4. Susceptibilidad de los aislados de <i>Candida</i> spp. frente al fluconazol, provenientes de hemocultivos de pacientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Febrero-julio de 2010.....	19
Figura 5. Susceptibilidad de los aislados de <i>Candida</i> spp. frente al voriconazol, provenientes de hemocultivos de pacientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Febrero-julio de 2010.....	21

RESUMEN

En el presente estudio se analizó la frecuencia de especies de *Candida* spp. y la susceptibilidad antimicótica, aisladas de hemocultivos, provenientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (HUAPA) de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, durante los meses de febrero-julio de 2010, en el que se procesaron un total de 92 hemocultivos, de los cuales 2 resultaron ser negativos. La identificación de las especies fúngicas se llevó a cabo a través de la utilización del medio CHROMagar *Candida*. De los 92 hemocultivos, 90 aislados (97,83%) correspondieron a *Candida* spp. La especie con mayor predominio fue *C. krusei* (53%), seguido de *C. albicans* (35%), *C. glabrata* (10%) y *C. parapsilosis* (2%). Para determinar la susceptibilidad antimicótica se empleó el método de difusión en agar, según los lineamientos establecidos por el Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos. Se evidenció que el 57% de los aislados fueron sensibles a fluconazol y voriconazol, frente al 43% de resistencia a estos fármacos. En relación al fluconazol, *C. krusei* y *C. albicans* presentaron sensibilidad moderada a este antifúngico (63% y 31% respectivamente), mientras que *C. glabrata* presentó resistencia al antimicótico (6%). En cuanto al voriconazol, se observó la alta sensibilidad que tiene *C. krusei* sobre éste antimicótico (85%), a diferencia del resto de las especies las cuales presentaron resistencia al fármaco. El uso inadecuado e indiscriminado de antimicóticos ha provocado la aparición y diseminación de mecanismos de resistencia antifúngica, lo que justifica los diferentes cambios en el perfil de sensibilidad y resistencia presentados por los aislados de *Candida* spp.

Palabra y/o Frases Claves: CANDIDEMIA, HEMOCULTIVOS, CHROMAGAR *Candida*, FLUCONAZOL, VORICONAZOL, RESISTENCIA ANTIMICÓTICA.

INTRODUCCIÓN

La candidemia es una micosis oportunista, ocasionada por levaduras del género *Candida*. Estos microorganismos son hongos inocuos y dimórficos, comúnmente forman parte de la flora habitual de la boca, orofaringe, intestino, vagina y piel de los humanos (Loza *et al.*, 2005). Se conocen más de 150 especies de *Candida*, de las cuales, sólo unas pocas son consideradas patógenas, reportándose a *Candida albicans* como la principal especie responsable de la candidemia, seguido de *Candida tropicalis*; sin embargo, otros miembros de este género se han reportado como agentes productores de infecciones, tales como *Candida parapsilosis*, *Candida guilliermondii*, *Candida lusitanae*, *Candida krusei*, *Candida zeylanoides* y *Candida ciferri* (Anaissie, 1992; Torres y Carceller, 1993; Lynch, 1994; Reséndiz y Morales, 2007).

Muchos hongos pueden producir infección en el recién nacido, pero la mayoría de los casos son debido a *Candida* y principalmente *C. albicans*, aunque en estudios recientes muestran que las *Candida* no *albicans* están aumentando su frecuencia como causa de infecciones (Guerra *et al.*, 2005). Las condiciones predisponentes más importantes para desarrollar candidemia son la neutropenia, los defectos en la inmunidad celular y la alteración de la flora microbiana (Cantón *et al.*, 2001).

Todo recién nacido debe considerarse como un individuo inmunodeficiente funcional, ya que los componentes de su sistema inmunológico son inmaduros en el momento del nacimiento. El grado de inmunosupresión está inversamente relacionado con la edad gestacional y el peso al nacer (Díaz *et al.*, 1999). En este grupo de pacientes, también se ha experimentado un incremento en las infecciones fúngicas intrahospitalarias, aumento que está ligado a la mayor supervivencia de la población pediátrica y a los avances que se han producido en los medios diagnósticos

y terapéuticos. Las áreas hospitalarias donde suelen presentarse con mayor frecuencia estas infecciones fúngicas son las unidades de cuidados intensivos (neonatales y pediátricas), considerándose que el 1,2% de los pacientes ingresados en estas unidades desarrollan una candidemia (Cantón *et al.*, 2001).

En los últimos años, se ha observado un significativo aumento en la proporción de infecciones por organismos levaduriformes en pacientes hospitalizados, ocupando la candidemia el tercer lugar de prevalencia en los aislamientos de hemocultivos en las unidades de cuidados intensivos neonatales (Silva *et al.*, 2003; Rojas *et al.*, 2004). La candidemia neonatal tiene como consecuencia la diseminación a diversos lugares profundos, tales como el sistema nervioso central, corazón, riñón, hígado, bazo, entre otros (Pastor y Guarro, 2007; Del Palacio *et al.*, 2009; Infante y Rojo, 2009).

La candidemia es una enfermedad asociada con alta mortalidad que depende de la especie de *Candida* involucrada, siendo *C. parapsilosis* la de mejor pronóstico y *C. glabrata* la de mayor tasa de mortalidad (Maschmeyer, 2004). *C. albicans* ha sido responsable del 40% de las infecciones en América Latina, Europa y Canadá mientras que *C. parapsilosis* es la especie de *Candida* no *albicans* más comúnmente recuperada en hemocultivos; a diferencia de la situación en los Estados Unidos, donde *C. glabrata* es la especie más frecuentemente aislada (Mesa *et al.*, 2005).

Los hemocultivos constituyen una de las muestras más importantes que se procesan en el laboratorio de Micología y son indispensables para establecer un diagnóstico etiológico en pacientes con septicemia, ésto implica que, tanto la detección como el tiempo en que se logre aislar el microorganismo patógeno, son de vital importancia para instaurar el tratamiento efectivo al paciente (Bolaños y Barrantes, 1998; Coto y Ibáñez, 2006). Es necesario administrar el tratamiento antifúngico en las 12-24 horas de aislamiento en hemocultivos de *Candida*, porque la mortalidad desciende de forma significativa en relación con la rapidez del inicio del

tratamiento antifúngico (Cueto y Pascual, 2007; Martínez *et al.*, 2008; Del Palacio *et al.*, 2009).

Los pacientes que ingresan en una unidad de neonatología pueden desarrollar, como complicación de la estancia en la sala de cuidados intensivos, una candidemia sistémica, debido a factores condicionantes como el bajo peso, la corta edad gestacional (menor a 27 semanas), tiempo de estancia hospitalaria superior a tres semanas, uso de tratamientos antibióticos de amplio espectro, existencia de catéteres venosos centrales, asistencia respiratoria mecánica o procedimientos quirúrgicos (Kunstmann y Rencoret, 1987; Manzoni *et al.*, 2007; Tiraboschi *et al.*, 2007; Benetucci *et al.*, 2008). Dichos factores facilitan la entrada potencial de los microorganismos, los cuales pueden ocasionar una colonización y posterior infección. Estos factores que favorecen el crecimiento de levaduras, pueden ser tanto intrínsecos del neonato como ambientales. Los mecanismos de transmisión pueden ser de tipo vertical (de la madre al neonato por el canal del parto) y de tipo horizontal: endógenos (a partir de la microbiota colonizante) o exógenos (a través de la piel, por medio de fómites o de las manos del personal de salud) (Orozco *et al.*, 2009).

La incidencia global de la infección fúngica causada por levaduras del género *Candida* es difícil de determinar, ya que sólo algunos centros hospitalarios disponen de un laboratorio especializado en diagnóstico micológico (Dolande *et al.*, 2008b). El diagnóstico de las enfermedades micóticas se establece con la demostración morfológica del hongo mediante un examen micológico directo y el aislamiento e identificación del agente fúngico en los cultivos (Anzalone *et al.*, 2004). Existen varios métodos comerciales para la identificación de levaduras patógenas, los cuales utilizan diferentes características de las mismas, como la morfología macroscópica y microscópica, facilitando la identificación específica de estas levaduras, que es un paso crucial para establecer un diagnóstico y tratamiento apropiado (Ballesté *et al.*, 2005).

La mayoría de las técnicas convencionales de identificación de *Candida*, se basan en métodos bioquímicos que requieren uno o más días para su correcta interpretación y que emplean colonias previamente aisladas que retrasan la identificación. Los avances científico-tecnológicos están permitiendo obtener técnicas rápidas de identificación basadas en indicadores de pH, fermentación de compuestos específicos o substratos cromógenos o fluorógenos que facilitan la detección de actividades enzimáticas (Quindós *et al.*, 2001). Los medios cromógenos resultan atractivos por la sencillez y rapidez con que establecen el diagnóstico de especie, mediante el desarrollo diferencial de colonias pigmentadas (Ballesté *et al.*, 2005).

El CHROMagar *Candida* es uno de los medios cromógenos más difundidos, siendo utilizado en algunos laboratorios de nuestro país para la identificación de levaduras del género *Candida*. El fundamento de este medio consiste en la inclusión de substratos cromógenos que, ante la presencia de la actividad enzimática específica de las levaduras, producen un color determinado. Las enzimas que se revelan son hexosaminidasa y fosfatasa alcalina; la primera está presente en *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. dubliniensis*, en tanto que *C. krusei* posee fosfatasa alcalina; otras especies también pueden presentar discreta actividad de esta enzima y la variación en la tonalidad depende del substrato cromógeno y la pigmentación natural de la levadura (Sanabria *et al.*, 2006; Alfonso *et al.*, 2010). Con el CHROMagar *Candida* se han reportado datos variados de sensibilidad y especificidad en la identificación de las diferentes especies dentro del género. También es utilizado como un medio de aislamiento e identificación primaria de levaduras, a partir de diferentes especímenes biológicos, lo que es aún muy discutido, dado que puede conducir a errores en el diagnóstico micológico cuando la levadura que se encuentra en la muestra no corresponde al género *Candida*. Por este motivo, algunos autores recomiendan considerar, además de la coloración que adquiere la colonia, el morfotipo de las mismas: rugosa, lisa, halo alrededor, naviculadas, umbilicación central, entre otras (Quindós *et al.*, 2001; Ballesté *et al.*, 2005).

Existen otras pruebas de identificación de levaduras entre las que se encuentran: producción de tubo germinativo, producción de clamidoconidias, resistencia a la actidiona o cicloheximida en agar micosel, prueba de termotolerancia, hidrólisis de la urea; además de pruebas bioquímicas y fisiológicas tales como fermentación de azúcares (zimograma), asimilación de azúcares o carbohidratos (auxanograma), asimilación de nitratos (KNO_3), entre otras (Dolande *et al.*, 2008a; Pemán y Almirante, 2008).

Los importantes avances médicos y tecnológicos experimentados en las unidades de cuidados intensivos neonatales en las dos últimas décadas, condujeron a un significativo aumento de la supervivencia de neonatos pretérmino y con patologías que requieren asistencia de alta complejidad (Pooli *et al.*, 2006). Los antifúngicos de primera línea recomendados actualmente para el tratamiento de las candidemias son la anfotericina B, en formulación tradicional o lipídica, el fluconazol, el voriconazol, la caspofungina y la micafungina (Pastor y Guarro, 2007).

El tratamiento de las infecciones por *Candida*, en las unidades de neonatología, ha variado desde que, en 1956, se usó la anfotericina B clásica por primera vez con propósito terapéutico. La anfotericina B y el fluconazol han sido, durante décadas, los fármacos de elección en el tratamiento empírico de la candidemia invasiva de los recién nacidos; sin embargo, se conoce que su uso clínico se basa en series de casos y pequeños ensayos no ciegos (Pastor y Guarro, 2007; Infante y Rojo, 2009).

El fluconazol fue el primer triazol aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) estadounidense para el tratamiento de las infecciones por *Candida*, en 1990. Los efectos adversos al fluconazol son infrecuentes y los más habituales son los gastrointestinales: vómitos, diarrea, náuseas, la elevación de transaminasas y de la bilirrubina, que son reversibles después de 2 semanas de interrupción del fármaco. El fluconazol se tolera mejor que la anfotericina B, pero

presenta 2 problemas: la aparición, en las últimas décadas, de especies de *Candida* resistentes a los azoles y sus múltiples interacciones farmacológicas, que hacen que no sea un fármaco de elección para un determinado tipo de pacientes (Infante y Rojo, 2009).

Ante la resistencia al fluconazol, han surgido nuevas alternativas terapéuticas, como el voriconazol, compuesto que se presenta como una posible solución para el manejo de las especies de *Candida* resistentes a los azoles de primera y segunda generación, así como a otros antimicóticos (Gutiérrez *et al.*, 2007).

Voriconazol es un triazol de segunda generación derivado del fluconazol, pero con una potencia y un espectro de actividad antifúngica muy superiores. Su acción frente a las levaduras es principalmente fungistática, aunque se ha descrito que algunos aislamientos de *Candida* son destruidos por voriconazol (Pemán *et al.*, 2006; Quindós *et al.*, 2007).

La elección de un fármaco u otro dependerá del estado clínico del paciente, de la colonización previa por *Candida* spp., de la epidemiología del hospital, de la sensibilidad de las distintas especies de *Candida*, de la toxicidad del fármaco en el contexto del paciente, de la presencia de disfunción orgánica que dificulte la eliminación del fármaco y de la exposición previa a antifúngicos (Barberán *et al.*, 2008).

En Venezuela, las enfermedades producidas por las especies del género *Candida*, no han recibido la atención sanitaria por parte de los organismos competentes, quizá se le atribuya a la naturaleza relativamente benigna de las mismas, a excepción de la candidemia profunda, a sus manifestaciones clínicas y a la dificultad para la diferenciación de estas especies complejas (D' Agostino, 1998).

Se han realizado estudios que demuestran la incidencia que tienen las especies de *Candida* en pacientes pediátricos (Giusiano *et al.*, 2000; Campos *et al.*, 2003). Sin embargo, en especial en el estado Sucre, no se han reportado investigaciones sobre *Candida* en hemocultivos de pacientes de retén. Por lo antes descrito, es importante analizar la frecuencia de especies de *Candida* spp., provenientes de hemocultivos de pacientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre.

METODOLOGÍA

Población

Para la realización de este trabajo de investigación, se examinaron muestras de hemocultivos procedentes de pacientes de retén, con impresión diagnóstica de candidemia, los cuales fueron seleccionados de forma no aleatoria, sin distinción de sexo, con o sin síndrome febril, provenientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

Muestra poblacional

Se procedió a trabajar con 92 hemocultivos, provenientes del Servicio de Neonatología, de los cuales 90 resultaron positivos, confirmados en el laboratorio de Micología, durante el período comprendido entre febrero y julio del año 2010.

Recolección y procesamiento de la muestra

En este estudio se siguieron los lineamientos establecidos por la Organización Mundial de la Salud (OMS) para trabajos de investigación en seres humanos y la Declaración de Helsinki (CIOMS, 2002) que establece que: el trabajo de investigación estará sólo a cargo de personas con la debida preparación científica y bajo la vigilancia de profesionales de la salud, se respetará el derecho a cada individuo participante en la investigación a salvaguardar su integridad personal, se adoptarán las precauciones necesarias para respetar la intimidad, la integridad física y mental del sujeto. Se les notificará, que será respetar su decisión de participar o no en el estudio y de la confidencialidad de la información. Además, se les informará sobre los alcances y objetivos de esta investigación, así como las ventajas y desventajas de su participación, esto con el propósito de obtener el consentimiento.

Cultivo, aislamiento y purificación

El procesamiento de hemocultivos se realizó siguiendo los procedimientos

descritos por Koneman *et al.* (1999), técnica que fue modificada en el laboratorio de Micología (Anexo 1). El análisis micológico se llevó a cabo a través del aislamiento primario de especies levaduriformes provenientes de hemocultivos en agar Sabouraud dextrosa (SDA), ya que fue el medio glucosado más indicado para realizar el aislamiento primario. Se sembró por estrías. Con ayuda de una pipeta Pasteur estéril se colocó una cantidad considerable de muestra en el medio de cultivo SDA, este procedimiento se realizó por duplicado. Los medios fueron incubados en condiciones de aerobiosis de la siguiente manera: uno a 37°C durante 24 horas, y el otro, a temperatura ambiente durante 72 horas. Posteriormente, a cada uno de los tubos se le realizó un repique en el medio de cultivo SDA, con la finalidad de verificar la pureza de las mismas.

Cultivo en el medio CHROMagar

A partir del crecimiento de las diferentes especies fúngicas aisladas en el SDA, se procedió a realizar la siembra por estrías, con ayuda de un hisopo estéril en el medio de cultivo cromogénico. Se empleó el medio CHROMagar *Candida*, con la finalidad de obtener un color característico, según la especie. Las placas se incubaron en condiciones de aerobiosis, a 37°C, durante 24 horas. El fundamento de este medio consiste en la detección de actividades enzimáticas por parte de las levaduras, mediante la hidrólisis específica de un substrato cromogénico en presencia de un indicador, que orientó hacia la especie en estudio. Este procedimiento se realizó de acuerdo a los esquemas descritos por Linares *et al.* (2001) (Anexo 2).

Estudio morfológico

A partir del aislamiento de las especies fúngicas en los medios empleados, se procedió a verificar las características morfológicas de las colonias, tales como tamaño, aspecto, forma, color, que orientaron hacia el grupo de hongos en estudio.

Con respecto a *C. albicans* en SDA, se observaron colonias de crecimiento

rápido, cremosas, de color blanco o ligeramente crema, lisas, convexas, de aspecto mate u opaco. En agar cromogénico se visualizaron colonias de color verde claro o verde esmeralda, ligeramente brillantes, lisas y convexas.

En relación a *C. glabrata* en SDA, se observaron colonias de crecimiento rápido, cremosas, de color blanco o beige, lisas, convexas, de aspecto ligeramente brillante. En agar cromogénico se observaron colonias de color amarillo ocre, moradas o marrón claro, ligeramente brillantes, lisas y convexas.

C. parapsilosis en SDA se visualizaron colonias de crecimiento rápido, cremosas, de color blanco o ligeramente crema, lisas, convexas, de aspecto mate u opaco. En agar cromogénico se observaron colonias de color crema o marrón claro, lisas y convexas.

C. tropicalis en SDA se observaron colonias de crecimiento rápido, cremosas, de color blanco, lisas, convexas, de aspecto mate u opaco. En agar cromogénico se observaron colonias de color azul púrpura intenso u oscuro con brillo metálico, lisas y convexas.

C. krusei en SDA se visualizaron colonias de crecimiento rápido, cremosas, de color beige, vellosas, planas, de aspecto seco u opacas y con borde micelial en cultivos, con más de 5 días de incubación. En agar cromogénico se observaron colonias de color rosa pálido, secas, planas y vellosas o aterciopeladas.

C. lusitaniae en SDA se observaron colonias de crecimiento rápido, cremosas, de color crema, lisas, convexas y brillantes.

C. guilliermondii en SDA se visualizaron colonias de crecimiento rápido, cremosas, de color crema a rosa pálido, lisas, planas, y brillantes (Dolande *et al.*,

2008a).

Observación microscópica

A partir del crecimiento de las diferentes especies fúngicas seleccionadas en el SDA, se procedió, con ayuda de una pinza, a colocar en un portaobjetos una cantidad considerable de la muestra, posteriormente se agregó una gota de hidróxido de potasio (KOH) al 20% y se cubrió con una laminilla, lo que facilitó la observación, ya que esta sustancia presenta un efecto clarificador, disolviendo los distintos elementos celulares y dejando intacta la pared celular fúngica. De igual manera, se realizó el mismo procedimiento, pero utilizando como colorante el azul de lactofenol con la finalidad de observar al microscopio la morfología celular, que orientó hacia el microorganismo en estudio (Guevara *et al.*, 2007).

Prueba de susceptibilidad antimicótica

Para la realización de la prueba de susceptibilidad antimicótica se empleó el método de difusión en agar, y se siguió los lineamientos establecidos por el Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos (CLSI, 2009), estandarizados y publicados en el manual M44-A2. El procedimiento se llevó a cabo de la siguiente manera: se tomaron de 3-5 colonias aisladas del microorganismo, identificado previamente del SDA. Luego, con ayuda de un hisopo estéril, se sembró por diseminación sobre la superficie de la placa de agar Mueller Hinton modificado (con la adición al medio de glucosa y una solución stock de azul de metileno), la cual se dejó secar de 3-5 minutos. Posteriormente con ayuda de una pinza estéril, se presionó suavemente sobre la superficie del agar, se colocaron los discos de antimicóticos de elección: fluconazol (25 µg), y voriconazol (1 µg). Después, estas placas se incubaron a 37°C durante 24 horas en aerobiosis, al cabo de cierto tiempo se procedió a realizar la medición de los halos de inhibición y dependiendo del tamaño se clasificaron, según las categorías establecidas por el CLSI (2009), en sensible (S), intermedio (I) y resistente (R).

Para realizar el control de calidad, se emplearon cepas de *Candida* certificadas por el Instituto de Higiene “Rafael Rangel”, *C. albicans* 98289, *C. krusei* ATCC 6258, y *C. parapsilosis* ATCC 22019. Con estas mismas cepas se establecieron los valores del diámetro de inhibición utilizados en el laboratorio. Para la técnica modificada; fluconazol: ≥ 14 mm (S); 11-13 mm (I) y ≤ 10 mm (R). Para voriconazol: ≥ 12 mm (S); 10-11 mm (I) y ≤ 9 mm (R).

Análisis estadístico

Para expresar los resultados obtenidos, se utilizó estadística descriptiva, reportándose en tablas y gráficos de frecuencia (Morton *et al.*, 1993). El grado de concordancia o grado de acuerdo entre la sensibilidad de los distintos antifúngicos se comprobó mediante el test de Kruskal-Wallis. Una p menor a 0,05 se consideró altamente significativo (Moort, 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En los meses de febrero a julio del año 2010, se procesaron un total de 92 hemocultivos, provenientes de pacientes de retén del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (HUAPA), de la ciudad de Cumaná, estado Sucre; de los cuales se obtuvo 90 aislados de *Candida* spp. (Tabla 1).

Tabla 1. Aislamiento de *Candida* spp. en hemocultivos provenientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Febrero-julio de 2010.

Hemocultivos	Nº	%
Positivo	90	97,83
Negativo	2	2,17
Total	92	100

Nº: número de casos; %: porcentaje.

El aislamiento de *Candida* spp. en la mayoría de los hemocultivos pediátricos procesados, es debido a que el sistema inmunológico del neonato es inmaduro, ésto implica que, estos pacientes puedan desarrollar una candidemia sistémica. Según Esteves *et al.* (2009), es común encontrar hemocultivos positivos para especies de *Candida* en pacientes hospitalizados, el origen de las infecciones puede ser por motivos de enfermedad, o adquiridas durante la estancia hospitalaria.

La infección neonatal por levaduras, ha emergido en las últimas décadas, como un problema de salud importante en las unidades de cuidados intensivos neonatales. El espectro de presentación ha dejado de corresponder exclusivamente a brotes epidemiológicos, para posicionarse dentro de los cinco primeros agentes causantes de infección neonatal (Reyna *et al.*, 2007).

En la figura 1 se muestra la distribución porcentual de las especies de *Candida* que se aislaron de los hemocultivos utilizando el medio CHROMagar, evidenciándose que *C. krusei* fue la especie mayormente aislada con 53%, seguido de *C. albicans* con un 35%, *C. glabrata* (10%) y *C. parapsilosis* (2%).

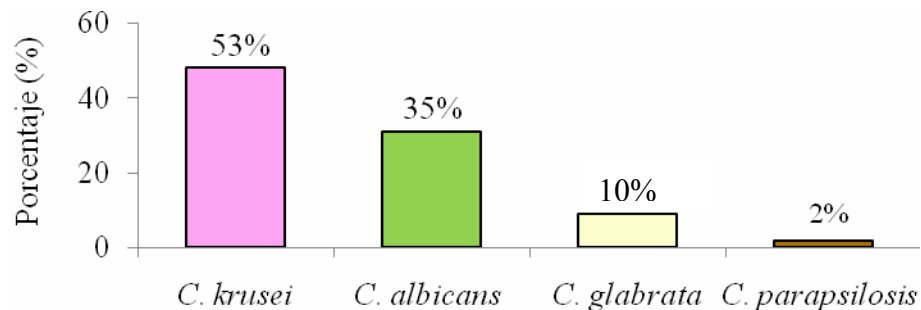


Figura 1. Distribución porcentual de *Candida* spp. aisladas de hemocultivos, utilizando el medio CHROMagar, provenientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Febrero-julio de 2010.

En el presente estudio, *C. krusei* fue la especie de *Candida* con mayor predominio aislada de los hemocultivos, es importante destacar que no se encontró en la literatura resultados similares, sin embargo; Cantón *et al.* (2001), Dolande *et al.* (2008b), Del Palacio *et al.* (2009), revelaron que el aumento de prevalencia de *C. krusei* es objeto de debate; entre otros, los factores que se citan son la edad, antecedentes de profilaxis antifúngica con fluconazol y en pacientes con neoplasia hematológica. Este aumento no sólo es atribuible a los factores ya mencionados, sino también al uso de nuevos sistemas para la identificación de las levaduras que poseen mayor especificidad y sensibilidad (Zuluaga *et al.*, 2010). Estos resultados difieren del estudio llevado a cabo por Pooli *et al.* (2006) y Orozco *et al.* (2009), donde *C. krusei* se ubica en menor proporción con una incidencia inferior al 10%.

En los últimos años, se ha observado un cambio importante en el comportamiento epidemiológico de las infecciones por levaduras, el aislamiento de especies diferentes a *C. albicans* es cada vez más frecuente y por consecuencia el

incremento en la resistencia antimicótica de estos microorganismos es en un inicio el problema más importante (Reyna *et al.*, 2007).

Según investigaciones llevadas a cabo por Pemán *et al.* (2006) y Orozco *et al.* (2009), en España y en el Hospital Universitario en Bogotá, Colombia, respectivamente; *C. albicans* resultó ser la principal especie de *Candida* recuperada en sangre en las unidades de cuidados intensivos neonatales, con cerca de las dos terceras partes de los pacientes colonizados. Existe un estudio que demuestra que, esta especie es la más frecuente en casi todo tipo de muestras clínicas (Mujica *et al.*, 2004). Estos resultados no concuerdan con el presente estudio, ya que *C. albicans* se aisló en el 35% de los casos, apreciándose un ligero declinar en el porcentaje de aislamientos, la opinión más extendida, es que el uso profiláctico y empírico de fluconazol ha contribuido a este cambio (Del Palacio *et al.*, 2009).

La introducción de la profilaxis con fluconazol en pacientes oncohematológicos, a partir de 1990, redujo en forma significativa las infecciones por *C. albicans* (Mujica *et al.*, 2004). Se ha sugerido que una explicación de la emergencia de especies diferentes a *C. albicans*, sería la selección de especies menos susceptibles a los agentes antifúngicos. Sin embargo, las terapias a largo plazo y la profilaxis parecen ser las responsables del desarrollo de resistencia, donde el fluconazol juega un importante rol (Giusiano *et al.*, 2003).

En relación a *C. glabrata*, esta especie se aisló en un 10% de los casos, este resultado coincide con el estudio llevado a cabo por Mesa *et al.* (2005), en el Hospital Universitario de Maracaibo, Venezuela (2000-2002), donde esta especie también se aisló en un porcentaje bajo (1,1%). La asociación de *C. glabrata* como causa de candidemia en adultos, podría explicar la baja frecuencia de esta especie en este estudio, donde todos los aislados eran de origen pediátrico; no obstante, se ha asociado con un período prolongado de hospitalización y previa terapia antifúngica.

Con respecto a *C. parapsilosis*, aparece como la especie de *Candida* con la menor frecuencia en los aislamientos de hemocultivos (2%), dicho resultado es comparable con la investigación llevada a cabo por Rodríguez *et al.* (2005), demostrando la incidencia de esta especie en neonatos en menos de 2%. Ésto, probablemente, se relaciona con la frecuencia de contacto del personal con los pacientes o con la oportunidad para el lavado de manos de los mismos; ya que se ha descrito como una de las especies con mayor posibilidad de colonización en manos (Orozco *et al.*, 2009). Ésto difiere de otros reportes, donde *C. parapsilosis* es la especie de *Candida* no *albicans* más comúnmente recuperada de hemocultivos en América Latina, Europa y Canadá, (Giusiano *et al.*, 2003; Mesa *et al.*, 2005). Ésta especie ha sido responsable de la producción de epidemias intrahospitalarias, relacionadas con el mal manejo de los catéteres centrales o periféricos y por la contaminación de las soluciones de perfusión, que junto con la particular afinidad que tiene esta levadura por los materiales sintéticos, contribuye a explicar su asociación a infecciones relacionadas a los catéteres (Cantón *et al.*, 2001; Mujica *et al.*, 2004; Dolande *et al.*, 2008b).

El aumento de las infecciones causadas por *Candida* en los pacientes hospitalizados, el incremento de los aislamientos de especies diferentes a *C. albicans*, frecuentemente menos sensible a los antimicóticos, y la resistencia a los antimicóticos han creado la necesidad de identificar la especie de todos los aislamientos clínicos de *Candida*, y conocer los perfiles de sensibilidad a los diferentes antimicóticos (Zuluaga *et al.*, 2010).

En la figura 2 se muestra la susceptibilidad de los aislados de *Candida* spp., se encontró que frente a ambos antimicóticos, el 57% de los aislamientos se comportaron como sensibles y 43% resistentes, siendo esta diferencia no significativa.

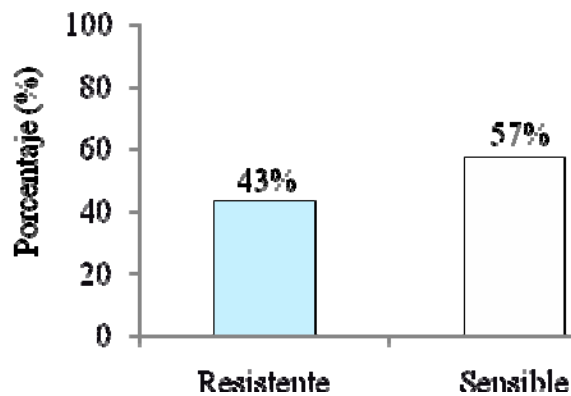


Figura 2. Susceptibilidad de los aislados de *Candida* spp., provenientes de hemocultivos de pacientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Febrero-julio de 2010.

En el perfil de sensibilidad de los aislamientos de *Candida* spp. analizados en este estudio, se observó que la mayoría de los aislados fueron sensibles al fluconazol y voriconazol, lo cual concuerda con otras investigaciones donde se evidenció que las especies de *Candida* presentaron buena actividad sobre ambos antimicóticos. (Arcaya *et al.*, 2006; Pemán *et al.*, 2006).

En la figura 3 se muestra la diferencia entre el diámetro del halo de inhibición, con respecto a ambos antimicóticos, donde es notable la alta sensibilidad que presentó *Candida* spp. frente a voriconazol.

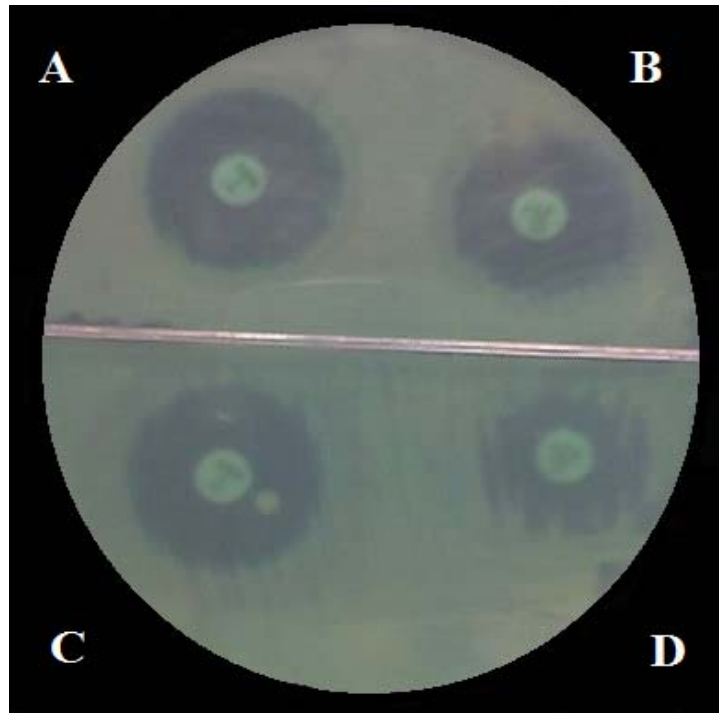


Figura 3. Diámetro del halo de inhibición de los aislados de *Candida* spp., detectado por el método de difusión en agar, A y C: *Candida* spp. contra voriconazol; B y D: *Candida* spp. contra fluconazol.

Gutiérrez *et al.* (2007), realizaron un estudio similar para evaluar la sensibilidad, donde se evidenció una actividad superior del voriconazol contra el fluconazol, considerándose un importante indicador en la instauración de la terapia antifúngica adecuada.

En la figura 4 se evidencia la susceptibilidad de los aislados de *Candida* spp., frente al fluconazol, los cuales fueron agrupados tomando en cuenta el predominio de la especie y al diámetro del halo de inhibición producido por la misma, observándose que *C. krusei* y *C. albicans* presentaron moderada sensibilidad (63% y 31% respectivamente), sin embargo; *C. glabrata* presentó resistencia a este antimicótico.

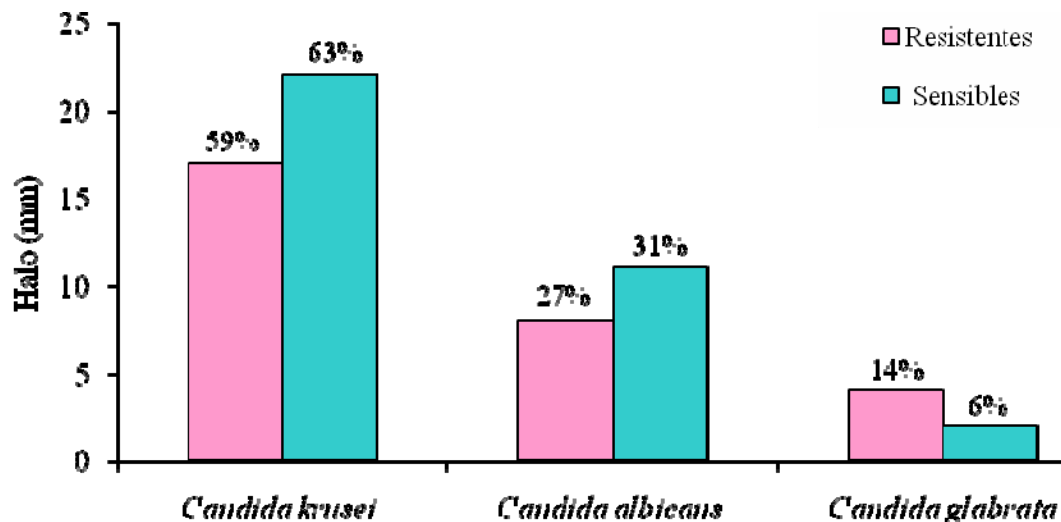


Figura 4. Susceptibilidad de los aislados de *Candida* spp. frente al fluconazol, provenientes de hemocultivos de pacientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Febrero-julio de 2010.

El desarrollo de los antimicóticos y su uso clínico, trajo como consecuencia cambios epidemiológicos, como la aparición de cepas con resistencia secundaria y la sustitución de especies sensibles por otras con resistencia intrínseca, esto último relacionado específicamente al uso de fluconazol en terapia empírica (Dolande *et al.*, 2008b).

Según Zuluaga *et al.* (2010), *C. krusei* es una de las especies asociada a mayor mortalidad (60%). Con respecto a la actividad de esta especie frente al fluconazol, se observó que presentó buena actividad sobre este antimicótico (63%), sin embargo, estos resultados difieren con la investigación llevada a cabo por Thompson (2002), Durán *et al.* (2003); Quindós *et al.* (2007), en la que se cita la resistencia intrínseca de esta especie ante el fluconazol, el cual suele causar infecciones donde este se utiliza como profilaxis.

C. albicans es la especie que se aísla con mayor frecuencia en casi todo tipo de

muestras clínicas y unidades de hospitalización, especialmente en los hemocultivos, a diferencia de este estudio en el que esta especie ocupó el segundo lugar. En cuanto al comportamiento frente al fluconazol, el 31% de los aislamientos de esta especie fueron sensibles a este antimicótico, situación que es comparable con el estudio de Arcaya *et al.* (2006), donde este antifúngico también resultó ser efectivo.

Las especies de *Candida* tienen diferentes mecanismos de resistencia a los fármacos, relacionados con los cambios estructurales en su pared celular y con los blancos antifúngicos, éstos se eliminan por bombas de flujo externo. Forman biopantallas, mutan sus receptores para prevenir la penetración del fármaco, y modifican las vías metabólicas para eliminar los antifúngicos rápidamente. El reemplazo de moléculas de ergosterol por formas más saturadas previene la unión con el antifúngico (Camacho *et al.*, 2007). Aunque, cada uno de los mecanismos mencionados puede disminuir la sensibilidad del hongo a los antifúngicos, sobre todo al fluconazol, es muy probable que en la resistencia final estén implicados varios mecanismos (Quindós *et al.*, 2007).

En cuanto a *C. glabrata*, fue notable la resistencia al fluconazol (6%), los resultados obtenidos son comparables con los de Martínez *et al.* (1998), y Blanco *et al.* (2009), quienes reportaron que en los últimos años esta especie ha emergido como patógeno oportunista y potencialmente resistente al fluconazol, esta condición es debida a un incremento en la síntesis del ergosterol dependiente del citocromo P-450 y la existencia de una bomba de eflujo activa para este antifúngico, por lo tanto, concentraciones subterapéuticas de fluconazol favorecen la aparición de resistencias, pudiendo incrementar la colonización y la infección por esta especie en los pacientes que han recibido profilaxis con este antimicótico (Pemán *et al.*, 2006).

El voriconazol ha sido recientemente admitido para el tratamiento de las

candidemias en pacientes no neutropénicos. Su eficacia ha sido comparada a la de la terapia estándar con anfotericina B, seguida o no de fluconazol, en dichos procesos obteniéndose tasas similares de curación, supervivencia y esterilización de los hemocultivos, con ambas pautas terapéuticas (Pastor y Guarro 2007).

En la figura 5, se observa la susceptibilidad de los aislados de *Candida* spp., frente a voriconazol, agrupadas de acuerdo al orden de predominio y al diámetro del halo de inhibición, donde se observó la buena efectividad que tienen los aislados de *C. krusei* ante el antimicótico, a diferencia del resto de las especies las cuales presentaron resistencia al fármaco.

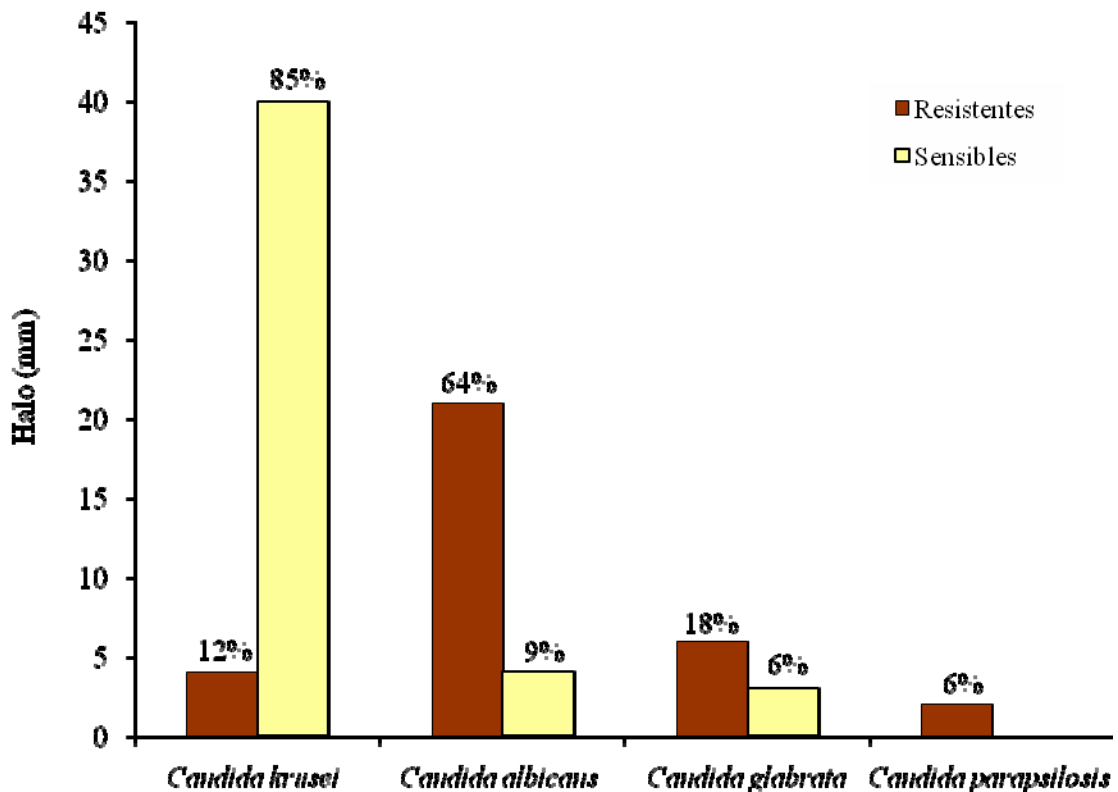


Figura 5. Susceptibilidad de los aislados de *Candida* spp. frente al voriconazol, provenientes de hemocultivos de pacientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Cumaná, estado Sucre. Febrero-julio de 2010.

En el caso de *C. krusei*, esta especie presentó alta sensibilidad al voriconazol (85%), este resultado es comparable con el estudio de Fica (2004), Pastor y Guarro (2007), Quindós *et al.* (2007), quienes demostraron que este fármaco presenta buena eficacia clínica e inclusive en aquellas especies con resistencia al fluconazol (Vásquez, 2004), ya que prácticamente el 100% de los aislamientos fueron sensibles, por tal motivo, es considerado el tratamiento de elección para infecciones causadas por esta especie. Existen diferencias significativas entre los antimicóticos aplicados a *C. krusei* ($p < 0,05$).

La duración óptima del tratamiento antifúngico de la candidemia es desconocida. Hasta ahora se ha promovido un tratamiento prolongado con el fin de prevenir complicaciones tardías debidas a focos metastáticos a distancia. Es posible que su duración y el desarrollo de complicaciones diferidas no tengan una relación tan lineal, como parece mostrar algún estudio, sugiriendo que un tratamiento de dos semanas o menos podría ser suficiente, siempre que la respuesta inicial sea favorable (Salavert *et al.*, 2008).

Con respecto a *C. albicans*, los aislados presentaron una notable resistencia frente al voriconazol (64%), estudio similar al obtenido por Carrillo *et al.* (1997), para quienes esta levadura desarrolla una resistencia emergente en pacientes que reciben tratamientos prolongados con fluconazol; sin embargo, Pastor y Guarro (2007), difieren de nuestro estudio, ya que ellos demostraron que en esta especie la actividad del voriconazol es superior a la del fluconazol. Existen diferencias significativas entre los antimicóticos aplicados a esta especie.

En este estudio, *C. glabrata* también resultó ser resistente ante el voriconazol (18%), resultado que concuerda con la investigación realizada por Pastor y Guarro (2007), quienes revelaron que es bien conocida la existencia de aislados de esta especie que presentan resistencia cruzada entre el fluconazol y los nuevos

antimicóticos, lo que se traduce clínicamente en el fracaso terapéutico del voriconazol en infecciones producidas por esta especie. No existen diferencias significativas entre los antimicóticos aplicados a *C. glabrata*.

Aunque se conoce que *C. parapsilosis* es un patógeno nosocomial importante, tanto en pacientes inmunocompetentes como en inmunodeprimidos, se aísla con mayor frecuencia en pacientes pediátricos (Pemán *et al.*, 2006), sin embargo, los dos aislados obtenidos presentaron resistencia al voriconazol (6%), este hallazgo es similar al obtenido por Zuluaga *et al.* (2010), donde se evidencia un aumento de la resistencia de esta especie, posiblemente relacionada con exposición previa al antifúngico, a diferencia del estudio llevado a cabo por Pemán *et al.*, (2006), quienes reportaron la alta sensibilidad de esta especie al voriconazol y al resto de los azoles. No existen diferencias significativas entre los antimicóticos aplicados a esta especie.

En la práctica, normalmente la terapia antimicótica ha sido ya instaurada antes de disponer de los resultados de laboratorio, situación que conlleva a la aparición de resistencias, lo que ha traído como consecuencia mayor morbilidad y altos costos de inversión en salud, lo que ha llevado a la necesidad de determinar en el laboratorio, el tipo de agente antimicótico y los patrones de sensibilidad a los fármacos, para la selección efectiva de la terapia, hecho particularmente útil en el paciente crítico, en especial recién nacidos.

CONCLUSIONES

Este estudio demostró que de los 92 hemocultivos obtenidos, 90 resultaron positivos para *Candida* spp. en neonatos.

El porcentaje de aislamientos en estos pacientes fue de 97,83%, la especie con mayor predominio fue *C. krusei* (53%), seguida de *C. albicans* (35%), *C. glabrata* (10%) y *C. parapsilosis* (2%).

Se observó en *C. krusei* y *C. albicans* sensibilidad al fluconazol, *C. parapsilosis* presentó resistencia al voriconazol, y en cuanto a *C. glabrata* fue evidente la resistencia a ambos antifúngicos.

El voriconazol constituye una opción terapéutica prometedora para el tratamiento de la candidemia producida por *C. krusei*, a diferencia del resto de las especies donde se observó resistencia a este antifúngico.

Se comprobó que el uso sistemático del agar cromogénico permitió una excelente identificación de las especies de levaduras estudiadas de manera rápida, orientando al médico tratante en la terapéutica adecuada y eficaz.

RECOMENDACIONES

Implementar monitoreos periódicos de la susceptibilidad a los antimicóticos de uso común en nuestro medio empleando métodos cuantitativos, como la concentración inhibitoria mínima (CIM), ya que, permitiría obtener mejores resultados cuando los obtenidos por otros métodos son imprecisos.

Realizar la identificación de las levaduras a nivel de especie y conocer la susceptibilidad antifúngica, para garantizar el tratamiento más acertado y su más oportuna administración a pacientes críticamente enfermos, ya que, el riesgo de infección por especies resistentes y la constante amenaza de un cambio en la distribución de las especies es un problema cada vez más creciente.

Creación y fortalecimiento de laboratorios especializados en el diagnóstico y estudio de levaduras, lo cual traería como consecuencia un despliegue cada vez mayor sobre el conocimiento de éstos microorganismos.

Promover una estrategia en la terapéutica con fluconazol, mediante la aplicación de una concentración mayor de éste fármaco, en los casos donde se observó resistencia a este medicamento.

BIBLIOGRAFÍA

Alfonso, C.; López, M.; Arechavala, A.; Perrone, M.; Guelfand, L. y Bianchi, M. 2010. Identificación presuntiva de *Candida* spp y de otras levaduras de importancia clínica: utilidad de brilliance *Candida* agar. *Rev. Iberoam. Micol.*, 27(2): 90-93.

Anaissie, E. 1992. Opportunistic mycosis in the immunocompromised host: experience at a cancer center and review. *Clin. Infect. Dis.*, 14: 40-43.

Anzalone, L.; Arenas, C.; Ballesté, R.; Bazet, C.; Blanco, J. y Legnani, M. 2004. *Manual de toma de muestra para estudios bacteriológicos, parasitológicos y micológicos*. Editorial Médica Panamericana. Montevideo, Uruguay.

Arcaya, N.; Mesa, L.; Pineda, M.; Beltrán, H. y Calvo, B. 2006. Perfil de sensibilidad antifúngica de especies de *Candida* aisladas de hemocultivos en un Hospital Universitario, Maracaibo, Venezuela. *Rev. Iberoam. Micol.*, 23: 97-100.

Ballesté, R.; Arteta, Z.; Fernández, N.; Mousqués, N.; Xavier, B.; Cabrera, M.; Acosta, G.; Combol, A. y Gezuele, E. 2005. Evaluación del medio cromógeno CHROMagar *Candida* para la identificación de levaduras de interés clínico. *Rev. Med. Urug.*, 21(3): 190-195.

Barberán, J.; Mensa, J.; Fariñas, C.; Linares, P.; Serrano, R.; Menéndez, R.; Agustí, C.; Gobernado, M.; Azanza, J. y García, J. 2008. Recomendaciones de tratamiento antifúngico en pacientes con bajo grado de inmunodepresión. *Rev. Esp. Quimioter.*, 21(2): 127-142.

Benetucci, A.; Tiraboschi, I.; Fernández, N.; Perazzi, B. y Lasala, M. 2008. Factores de riesgo asociados a candidemias causadas por múltiples especies. *Rev. Argent. Microbiol.*, 40: 30-36.

Blanco, M.; Cañadas, J.; García, P.; Marín, P.; García, A. y Rodríguez, M. 2009. Actividad in vitro de posaconazol, fluconazol, itraconazol, ketoconazol y voriconazol frente a *Candida glabrata*. *Rev. Esp. Quimioter.*, 22(3): 139-143.

Bolaños, M. y Barrantes, E. 1998. Detección de hemocultivos positivos por el método tradicional y el sistema automatizado BACTEC 9050. Servicio de bacteriología Hospital San Juan de Dios. *Rev. Costarric. Cienc. Méd.*, 19(2): 129-133.

Camacho, A.; Rositas, F. y Ramos, J. 2007. Candidemia en pacientes críticamente enfermos sin neutropenia: lo que el internista debe saber. *Med. Int. Mex.*, 23(3): 234-239.

Campos, M.; Herrera, M.; Marín, J.; Moya, T. y Vargas, A. 2003. Especies de *Candida* en el Hospital Nacional de Niños 1995-2001. *Rev. Méd. Hosp. Nac. Niños.*, 38(1-2): 45-51.

Cantón, E.; Viudes, A. y Pemán, J. 2001. Infección sistémica nosocomial por levaduras. *Rev. Iberoam. Micol.*, 18: 51-56.

Carrillo, A.; Tur, C.; Estivill, D.; Montsant, L.; Hernández, J. y Torres, J. 1997. Resistencia in vitro al fluconazol e itraconazol en aislamientos clínicos de *Candida* spp. y *Cryptococcus neoformans*. *Rev. Iberoam. Micol.*, 14: 50-54.

Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI). 2009. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline-second edition. *Document M44-A2*. Wayne, Pennsylvania.

Consejo de Organizaciones Internacionales de las Ciencias Médicas (CIOMS). 2002. Pautas éticas internacionales para la investigación biomédica involucrando seres humanos. Organización Mundial de la Salud, Ginebra.

Coto, G. y Ibáñez, A. 2006. Protocolo diagnóstico-terapéutico de la sepsis neonatal. *Bol. Pediatr.*, 46: 125-143.

Cueto, M. y Pascual, A. 2007. El hemocultivo pediátrico: indicaciones y técnica. *An. Pediatr. Contin.*, 5(5): 279-282.

D' Agostino, A. 1998. Serotipificación de *Candida albicans* aisladas de heces de niños con síndrome diarreico provenientes de emergencia pediátrica. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Del Palacio, A.; Villar, J. y Alhambra, A. 2009. Epidemiología de las candidiasis invasoras en población pediátrica y adulta. *Rev. Iberoam. Micol.*, 26: 2-7.

Díaz, R.; Solórzano, F.; Padilla, G.; Miranda, M.; González, R. y Trejo, J. 1999. Infecciones nosocomiales. Experiencia en un hospital pediátrico de tercer nivel. *Sal. Públ. Méx.*, 41: 81-94.

Dolande, M.; Reviákina, V. y Panizo, M. 2008a. *Manual de identificación y pruebas de susceptibilidad de levaduras a los antifúngicos*. "Publicación patrocinada por Pfizer Venezuela, S.A." Material de uso exclusivo para los profesionales de la

salud. Caracas, Venezuela.

Dolande, M.; Reviákina, V.; Panizo, M.; Macero, C.; Moreno, X.; Calvo, A.; Selgrad, S.; Papatzikos, J.; Vergara, V. y Mendoza, M. 2008b. Distribución y sensibilidad a los antifúngicos de aislamientos clínicos de *Candida* en seis centros de salud del área metropolitana de Caracas, Venezuela (años 2003-2005). *Rev. Iberoam. Micol.*, 25: 17-21

Durán, M.; Velasco, D.; Canle, D.; Moure, R. y Villanueva, R. 2003. Susceptibilidad antifúngica de aislados de *Candida* spp. de hemocultivos en un período de cinco años (1997-2001). *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 21(9): 488-492.

Esteves, A.; Martínez, E.; Tenorio, I.; Arroyo, S.; Moncada, D. y Arenas, R. 2009. 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. *Rev. Mex. Dermatol.*, 53: 3-6.

Fica, A. 2004. Tratamiento de infecciones fúngicas sistémicas. Primera parte: fluconazol, itraconazol, voriconazol. *Rev. Chil. Infectol.*, 21: 26-38.

Giusiano, G.; Mangiaterra, M.; Rojas, F. y Gómez, V. 2003. Funguemia y colonización de catéteres en pacientes pediátricos hospitalizados. Trabajo de pregrado. Departamento de Micología. Instituto de Medicina Regional-UNNE. Universidad Nacional Del Nordeste, Argentina.

Giusiano, G.; Mangiaterra, M.; Deluca, G. y Usandizaga, G. 2000. Hongos levaduriformes emergentes y su sensibilidad antifúngica en pacientes pediátricos hospitalizados. Trabajo de pregrado. Departamento de Micología. Instituto de Medicina Regional-UNNE. Universidad Nacional Del Nordeste, Argentina.

Guerra, E.; Guerra, J.; Bambarén, E. y Zegarra, J. 2005. Candidiasis sistémica en la UCI neonatal del Hospital Nacional Cayetano Heredia. *Diagnost.*, 44(3): 180-183.

Guevara, M.; Urcia, F. y Casquero, J. 2007. *Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas*. Serie de normas técnicas N° 44. Lima, Perú.

Gutiérrez, C.; De Bedout, C.; Tobón, A.; Cano, L.; Arango, M.; Tabares, A. y Restrepo, A. 2007. Sensibilidad al fluconazol y voriconazol de aislamientos de *Candida* spp. obtenidos de la mucosa oral de pacientes con sida. *Infect.*, 11(4): 183-189.

Infante, M. y Rojo, P. 2009. Utilidad clínica de la micafúngina en el tratamiento de las candidiasis invasoras en el neonato. *Rev. Iberoam. Micol.*, 26: 56-61.

Koneman, E.; Allen, S.; Janda, W.; Schreckenberger, P. y Winn, W. 1999. *Diagnóstico microbiológico*. Quinta Edición. Editorial Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina.

Kunstmann, G. y Rencoret, G. 1987. Candidiasis sistémica neonatal. *Rev. Chil. Pediatr.*, 58(3): 236-239.

Linares, M.; Solis, F.; Pemán, J.; Martín, E. y Rubio, M. 2001. Identificación de levaduras. Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica. *Rev. Iberoam. Micol.*, 27: 1-8.

Loza, A.; Reséndiz, J.; Salgado, R. y Bernal, R. 2005. Aislamiento, identificación y patrones de susceptibilidad de cepas de *Candida* causantes de infección sistémica en un hospital infantil. *Quim. Farmac. Biolog.*, 17: 41-47.

Lynch, D. 1994. Oral candidiasis. History. Classification and clinical presentation. *Or. Surg: Or. Med. Or. Pathol.*, 7(2): 189-193.

Manzoni, P.; Stolfi, I.; Pugini, L.; Decembrino, L.; Magnani, C. y Vetrano, G. 2007. Fluconazol profiláctico en prematuros. *Rev. Chil. Infectol.*, 24(5): 415-416.

Martínez, E.; Esteves, A.; Tenorio, I.; Arroyo, S.; Moncada, D. y Arenas, R. 2008. Frecuencia de aislamientos microbiológicos en hemocultivos de pacientes internados en un hospital de segundo nivel de la ciudad de México. *Med. Int. Mex.*, 24(5): 338-341.

Martínez, J. y Albrecht, C. 1998. Sensibilidad al fluconazol y a la anfotericina B en cepas de *Candida* provenientes de aislamientos clínicos. *Rev. Iberoam. Micol.*, 15: 298-299.

Maschmeyer, G. 2004. Diagnóstico precoz de las infecciones fúngicas. *Infectol.*, 14: 4-5.

Mesa, L.; Arcaya, N.; Pineda, M.; Beltrán, H. y Calvo, B. 2005. Candidemia en el Hospital Universitario de Maracaibo, Estado Zulia, Venezuela 2000-2002. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 25(2): 31-36.

Moort, S. 2000. *Estadística aplicada básica*. Segunda edición. W.H. freeman and company. New York.

Morton, R.; Hebel, J. y Mc Carter, R. 1993. *Bioestadística y Epidemiología*. Tercera edición. Editorial Mac Graw Hill. México.

Mujica, M.; Finkelievich, J.; Jewtuchowicz, V. y Iovannitti, C. 2004. Prevalencia de *Candida albicans* y *Candida no albicans* en diferentes muestras clínicas. Período 1999-2001. *Rev. Argent. Microbiol.*, 36: 107-112.

Orozco, P.; Cortés, J. y Parra, C. 2009. Colonización por levaduras en recién nacidos y personal de salud en la unidad de cuidados intensivos neonatales de un hospital universitario en Bogotá, Colombia. *Rev. Iberoam. Micol.*, 26(2): 108-111.

Pastor, J. y Guarro, J. 2007. El papel del voriconazol en el tratamiento de las micosis emergentes. *Rev. Iberoam. Micol.*, 24: 228-232.

Pemán, J. y Almirante, B. 2008. Avances en el diagnóstico y tratamiento de las infecciones por levaduras: papel de los nuevos antifúngicos. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.*, 26(13): 38-46.

Pemán, J.; Canton, E.; Calabuig, E.; Bosch, M.; Valentin, A.; Viudes, A. y Gobernado, M. 2006. Actividad *in vitro* de voriconazol frente a levaduras y algas con los nuevos puntos de corte del patrón de resistencia. *Rev. Esp. Quimioterap.*, 19: 21-33.

Pooli, L.; Nocetti, M.; Pereda, R.; Rial, M. y Califano, G. 2006. Candidemia en una unidad de cuidados intensivos neonatales: Identificación de factores de riesgo. *Arch. Argent. Pediatr.*, 104(5): 393-398.

Quindós, G.; Carrillo, A.; Eraso, E.; Cantón, E. y Pemán, J. 2007. Actividad antifúngica *in vitro* de voriconazol: nuevos datos después de los primeros años de experiencia clínica. *Rev. Iberoam. Micol.*, 24: 198-209.

Quindós, G.; Vargas, R.; Helou, S.; Arechavala, A.; Mazuelos, E. y Negroni, R. 2001. Evaluación micológica de un nuevo medio de cultivo cromógeno (*Candida* ID®) para el aislamiento e identificación presuntiva de *Candida albicans* y otras levaduras de interés médico. *Rev. Iberoam. Micol.*, 18: 23-28.

Reséndiz, J. y Morales, J. 2007. Factores asociados a mortalidad por fungemias causadas por *Candida* sp. en niños. *Bol. Med. Hosp. Infant. Mex.*, 64: 176-180.

Reyna, J.; Fragoso, A.; Ortíz, F.; Soriano, D.; Bermúdez, G. y Plazola, N. 2007. Epidemiología hospitalaria de candidiasis neonatal en el Instituto Nacional de Perinatología en un período de cinco años. *Enf. Inf. Microbiol.*, 27(4): 110-113.

Rodríguez, C.; Rodríguez, A.; Bileida, A.; Meijomil, P.; Jiménez, I. y Ferrer, V. 2005. Aspectos microbiológicos de la candidiasis en neonatos. Trabajo de pregrado. Facultad de Medicina, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Rojas, F.; Mangiaterra, M. y Giusiano, G. 2004. Hongos levaduriformes en neonatos. Frecuencia y sensibilidad antifúngica. Trabajo de pregrado. Departamento de Micología. Instituto de Medicina Regional-UNNE. Universidad Nacional Del Nordeste, Argentina.

Salavert, M.; Jarque, I. y Pemán, J. 2008. Aspectos cambiantes de la candidemia y sus implicaciones clínico-terapéuticas. Trabajo de pregrado. Unidad de enfermedades infecciosas, Servicio de Hematología y Servicio de Microbiología del Hospital Universitario La Fe, Valencia, España.

Sanabria, R.; Samudio, M.; Fariña, N.; Laspina, F.; Ortellano, J.; Arbizu, G.; Laconich, M. y Rodríguez, H. 2006. Identificación de especies de *Candida* aisladas de pacientes ambulatorios, hospitalizados, e inmunocomprometidos en Paraguay. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud.*, 4(2): 45-51.

Silva, V., Cabrera, M.; Díaz, M.; Abarca, C. y Hermsilla, G. 2003. Prevalencia de *Candida albicans* en aislamientos de hemocultivo en Chile y primer caso de candidemia por *Candida dubliniensis*. *Rev. Iberoam. Micol.*, 20: 46-51.

Thompson, L. 2002. Nuevas alternativas en el armamento anti infeccioso que el clínico debe conocer. *Rev. Chil. Infectol.*, 19: 258-262.

Tiraboschi, I.; Carnovale, S.; Benetucci, A.; Fernandez, N.; Kurlat, I.; Foccoli, M. y Lasala, M. 2007. Brote de candidemia por *Candida albicans* en neonatología. *Rev. Iberoam. Micol.*, 24: 263-267.

Torres, J. y Carceller, A. 1993. Factores de patogenicidad en *Candida*. *Rev. Iberoam. Micol.*, 27: 22-27.

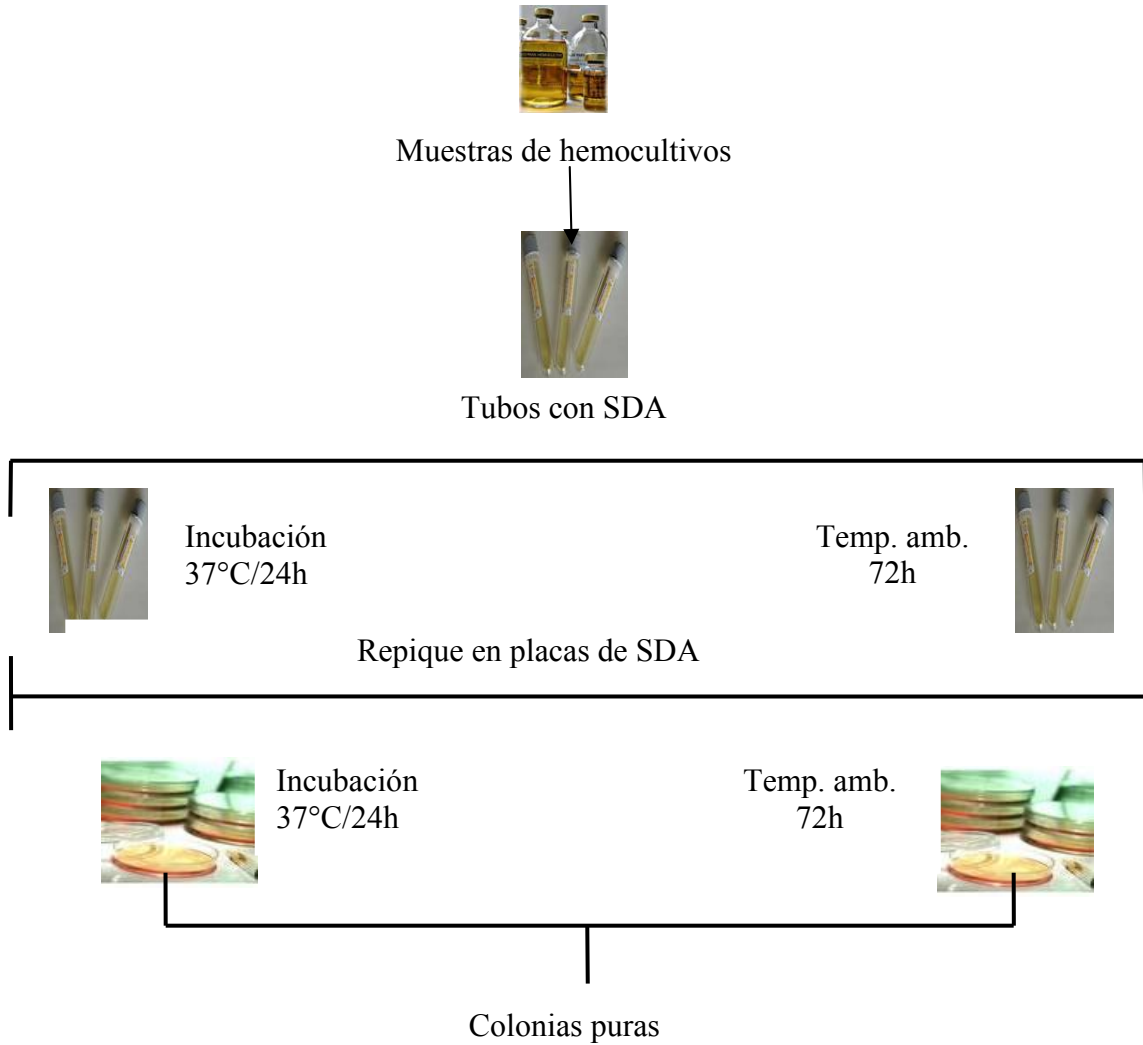
Vásquez, L. 2004. Importancia clínica de los azoles en la terapia antifúngica: tratamiento o profilaxis con los nuevos azoles en hematología. *Rev. Esp. Quimioterap.*, 17: 98-100.

Zuluaga, A.; Gómez, C.; Agudelo, C.; Parra, H.; Arango, M.; Restrepo, A. y González, A. 2010. Sensibilidad a fluconazol y voriconazol de especies de *Candida* aisladas de pacientes provenientes de unidades de cuidados intensivos en Medellín, Colombia (2001-2007). *Rev. Iberoam. Micol.*, 27(3): 125- 129.

ANEXOS

ANEXO 1

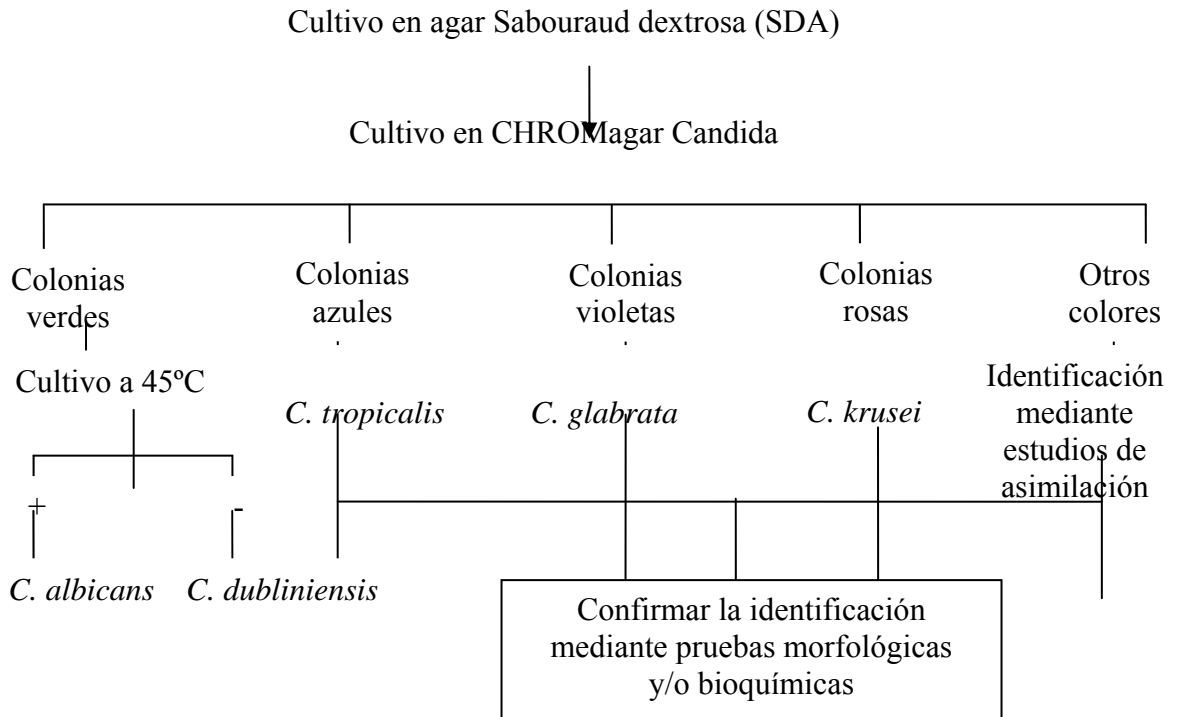
PROCESAMIENTO DE HEMOCULTIVOS



Fuente: Koneman *et al.*, 1999. (Técnica modificada en el laboratorio de Micología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”).

ANEXO 2

ESQUEMA DE IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *Candida* spp.



Fuente: Linares et al., 2001.

OBJETIVOS

General

Analizar la frecuencia de especies de *Candida* spp. aisladas en hemocultivos, provenientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, y la susceptibilidad antimicótica frente a fluconazol y voriconazol.

Específicos

Aislar *Candida* spp. en hemocultivos provenientes de pacientes recluidos en retén del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”.

Identificar especies del género *Candida* aisladas de los hemocultivos, utilizando el medio CHROMagar.

Determinar la susceptibilidad antimicótica frente a fluconazol y voriconazol de las especies aisladas.

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	Identificación De Candida Spp. Aisladas En Hemocultivos De Pacientes De Retén, Utilizando El Medio Chromagar, Y Susceptibilidad A Fluconazol Y Voriconazol. Cumaná, Estado Sucre
---------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
MORALES T., BETZAIDE K	CVLA	17.000.626
	C	
	e-mail	betzam7@hotmail.com
	e-mail	

Palabras y/o frases claves:

Candidemia,
Hemocultivos,
Chromagar Candida,
Fluconazol,
Voriconazol,
Resistencia Antimicótica

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
CIENCIAS	BIOANÁLISIS

Resumen (abstract):

En el presente estudio se analizó la frecuencia de especies de *Candida* spp. y la susceptibilidad antimicótica, aisladas de hemocultivos, provenientes del Servicio de Neonatología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (HUAPA) de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, durante los meses de febrero-julio de 2010, en el que se procesaron un total de 92 hemocultivos, de los cuales 2 resultaron ser negativos. La identificación de las especies fúngicas se llevó a cabo a través de la utilización del medio CHROMagar *Candida*. De los 92 hemocultivos, 90 aislados (97,83%) correspondieron a *Candida* spp. La especie con mayor predominio fue *C. krusei* (53%), seguido de *C. albicans* (35%), *C. glabrata* (10%) y *C. parapsilosis* (2%). Para determinar la susceptibilidad antimicótica se empleó el método de difusión en agar, según los lineamientos establecidos por el Instituto de Estándares de Laboratorios Clínicos. Se evidenció que el 57% de los aislados fueron sensibles a fluconazol y voriconazol, frente al 43% de resistencia a estos fármacos. En relación al fluconazol, *C. krusei* y *C. albicans* presentaron sensibilidad moderada a este antifúngico (63% y 31% respectivamente), mientras que *C. glabrata* presentó resistencia al antimicótico (6%). En cuanto al voriconazol, se observó la alta sensibilidad que tiene *C. krusei* sobre éste antimicótico (85%), a diferencia del resto de las especies las cuales presentaron resistencia al fármaco. El uso inadecuado e indiscriminado de antimicóticos ha provocado la aparición y diseminación de mecanismos de resistencia antifúngica, lo que justifica los diferentes cambios en el perfil de sensibilidad y resistencia presentados por los aislados de *Candida* spp.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
JOSEFA DÍAZ	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input checked="" type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	5.007.425
	e-mail	diazvv@gmail.com
	e-mail	
MARY CARMEN GÓMEZ	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> A <input checked="" type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	10.950.312
	e-mail	maryc_sept18@hotmail.com
	e-mail	
SARA CENTENO	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	5.702.407
	e-mail	saracenteno@gmail.com
	e-mail	
MARIBEL MORILLO	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	9.272.792
	e-mail	mcmorillod@yahoo.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año	Mes	Día
2012	03	16

Lenguaje: SPA

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS-BKMT.DOC	Aplication/word

Alcance:

Espacial: UNIVERSAL

Temporal:

Título o Grado asociado con el trabajo: LICENCIATURA EN BIOANÁLISIS

Nivel Asociado con el Trabajo: LICENCIATURA

Área de Estudio: BIOANÁLISIS

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

UNIVERSIDAD DE ORIENTE, NÚCLEO DE SUCRE

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN° 0975

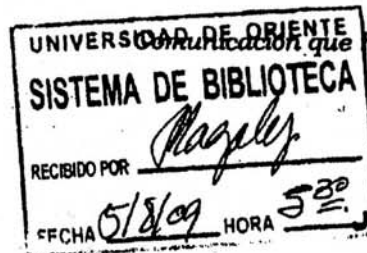
Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUNVELO
Secretario

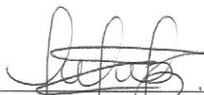


C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/marija

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) : “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.



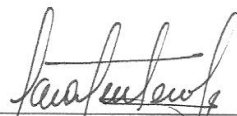
BETZAIDE KIMBERLIS MORALES TORREALBA



Prof. JOSEFA DÍAZ



Lcda. MARY C. GÓMEZ



Prof. SARA CENTENO



Dra. MARIBEL MORILLO