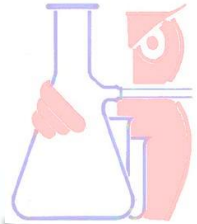


# **BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA**

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS MICROBIOLÓGICAS- ICUAP  
LABORATORIO DE MICOLOGÍA**



**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS**



**TESIS**

**FRECUENCIA DE LEVADURAS OPORTUNISTAS EN PACIENTES DE UN  
HOSPITAL DE TERCER NIVEL DE LA CIUDAD DE PUEBLA**

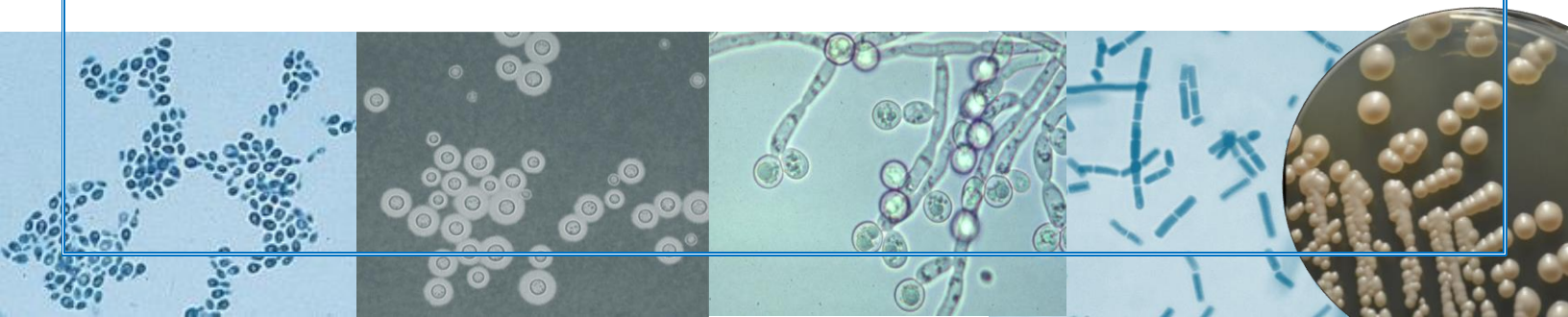
**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICO FARMACOBIOLOGO**

**PRESENTA  
BERENICE CHUMACERO MORENO**

**DIRECTOR  
D. C. RICARDO MUNGUÍA PÉREZ**

**ASESOR INTERNO  
M. S. P. MARÍA DE LA CRUZ MENESES SÁNCHEZ**

**PUEBLA, PUE.**



## ÍNDICE

1. RESUMEN	
2. INTRODUCCIÓN.....	4
3. MARCO TEÓRICO.....	5
3.1 Levaduras.....	5
3.2 Tipos de conidias asexuales.....	5
3.3 Polimorfismo de levaduras.....	5
3.4 Características del género y especies de <i>Candida</i> .....	6
3.4.1 Candidiasis.....	9
3.4.2 Epidemiología de las candidiasis.....	10
3.4.3 Factores de virulencia de <i>C. albicans</i> .....	11
3.5 Otros géneros de levaduras oportunistas.....	13
3.5.1 <i>Criptococcus</i> .....	13
3.5.2 <i>Trichosporon</i> .....	14
3.5.3 <i>Rhodotorula</i> .....	15
3.5.4 <i>Geotrichum</i> .....	15
4. MARCO DE REFERENCIA.....	17
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	20
6. JUSTIFICACIÓN.....	21
7. OBJETIVO GENERAL.....	22
8. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	22
9. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN.....	23
10. METODOLOGÍA.....	24
11. DIAGRAMA DE TRABAJO.....	26
12. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
13. CONCLUSIONES.....	37
14. BIBLIOGRAFÍA.....	38

## 1. RESUMEN

Los pacientes hospitalizados se encuentran muy susceptibles a padecer infecciones nosocomiales por distintos microorganismos, se ha reportado la incidencia de infecciones causadas por levaduras específicamente del género *Candida* pero no de otros géneros, en algunas unidades hospitalarias de México, por lo que la epidemiología de estos microorganismos no está bien esclarecida; juegan un papel importante en la afectación al paciente ya que se encuentran colonizando a individuos, siendo éstos portadores asintomáticos, sin embargo un pequeño desequilibrio en su salud y las levaduras actúan como patógenos oportunistas.

El presente estudio trabajó con las muestras clínicas de los pacientes de un hospital de tercer nivel, eligiendo aquellas que al ser sembradas hayan tenido crecimiento levaduriforme y que por distintos criterios se hayan elegido las muestras que representaron una infección al paciente y no una colonización. Éstas muestras fueron identificadas con ayuda de BD CHROMagar, axonograma, pruebas bioquímicas (urea, nitrato reductasa) y pruebas fisiológicas (termotolerancia, tubo germinal, producción de clamidosporas).

Con lo anterior se buscó conocer la frecuencia de levaduras oportunistas causantes de infección en los pacientes de un hospital de tercer nivel, su distribución en las diferentes muestras clínicas, así como las unidades hospitalarias y la enfermedad subyacente de pacientes infectados por levaduras; resultando el género *Candida* el más frecuentemente aislado y en particular la especie *albicans*, en muestras de urocultivo *Candida glabrata* fue la más frecuentemente aislada, medicina interna fue el servicio o unidad hospitalario donde se reportaron en mayor porcentaje los casos de infección y las infecciones de tracto urinario fueron la principal enfermedad subyacente.

## 2. INTRODUCCIÓN

Existe una diversidad considerable de hongos patógenos y oportunistas para el humano, han sido reconocidas aproximadamente 600 especies, distribuidas en 60 géneros pero solo alrededor de 30 pertenecen a la clasificación de levaduras de interés médico. Actualmente se ha documentado que en pacientes ambulatorios, las enfermedades asociadas a levaduras son menos frecuente que en pacientes hospitalizados (con excepción de pacientes diabéticos), debido a que éstos pueden encontrarse en tratamiento con fármacos inmunosupresores, antineoplásicos, corticoides, antibióticos de amplio espectro, tener alteración en la inmunidad causada por diversas patologías, tener deficiencias nutricionales, la implantación de catéteres y el estar sometidos a procedimientos quirúrgicos o terapéuticos que son invasivos, hace que estén más expuestos a adquirir una diversidad de infecciones entre las que se incluyen las ocasionadas por levaduras oportunistas.

De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud (OMS) las micosis más frecuentes, son las infecciones provocadas por levaduras específicamente del género *Candida*, pero en los últimos años se ha reportado la incidencia de infecciones provocadas por *Candidas* no *albicans* y otras levaduras. El género *Candida* forma parte de la microbiota del tracto respiratorio superior, tracto digestivo, cavidad oral y piel en personas sanas. En particular, *Candida albicans* es la principal especie (69 % a 90 %) documentada en la población humana a nivel global y en menor frecuencia: *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei* y *C. glabrata*. La distribución estas especies varía en función de la población y región geográfica.

Otra levadura oportunista como *Cryptococcus neoformans*, el cual es agente causal de la criptococosis, micosis sistémica de evolución subaguda o crónica; es una de las principales enfermedades oportunistas en pacientes con Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Las formas clínicas más frecuentes son la meningitis y la meningoencefalitis; en algunos casos puede suceder con diseminación a otros órganos. Otro grupo de levaduras de interés médico son: *Pichia sp.*, *Geotrichum candidum*, *Trichosporon spp.*, *Rhodotorula sp.*, *Saccharomyces cerevisiae*, el incremento de la incidencia de casos clínicos, por algunas de éstas levaduras, ha hecho que se les adjudique el término de “levaduras emergentes”.

### 3. MARCO TEÓRICO

#### 2.1 Levaduras

Las levaduras son hongos unicelulares, eucariontes que carecen de clorofila y por lo tanto son heterótrofos, se reproducen por gemación o fisión binaria y que viven a expensas de otros seres vivos (levaduras parásitas) o sobre materia orgánica muerta (levaduras saprófitas).

Los hongos levaduriformes forman colonias suaves, cremosas con pigmentos variados según el género y la especie; pueden ser: blancas, crema, color café, negras; van a estar constituidas por células redondas, ovales o gemantes denominadas blastosporas o blastoconidias; en algunas levaduras estas células quedan unidas y se alargan formando una especie de filamento denominado pseudohifa que en su conjunto forman pseudomicelio. La reproducción es asexual por gemación.

#### 2.2 Tipos de conidias asexuales

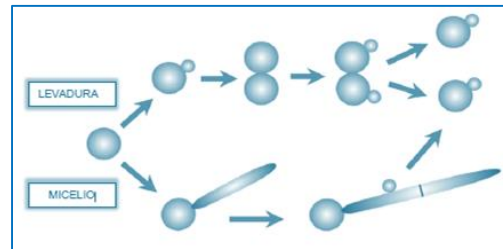
Desde el punto de vista médico la reproducción asexual es la más importante, pues la mayoría de los hongos patógenos para el hombre se reproducen de esta forma. Los tipos de conidios son:

1. Microconidias pequeñas unicelulares: pueden ser redondas o piriformes.
2. Macroconidias grandes fusiformes o en forma de clava o de tabaco de lápiz: por regla general septadas o multiseptadas.
3. Blastosporas o blastoconidias: célula redonda u oval que se reproduce por gemación con separación posterior del brote o yema de la célula progenitora.
4. Clamidosporas: las células en la pseudohifa se agrandan y forman paredes gruesas, son resistentes a condiciones ambientales desfavorables y germinan cuando estas condiciones mejoren.
5. Artrosporas: una hifa septada que se fragmenta en células individuales (Lop *et al.*, 2001).

#### 2.3 Polimorfismo de levaduras

La transición dimórfica en hongos se describe como la capacidad de las células para alternar durante su ciclo de crecimiento entre la forma de levadura y la de micelio. Esta diferenciación se considera un factor de virulencia muy importante en muchos hongos patógenos. Dentro del ciclo celular de los hongos dimórficos, las morfologías básicas observadas son levadura (forma unicelular) y micelio (forma pluricelular), (Figura 1).

Numerosos factores nutricionales y ambientales, incluyendo temperatura, aminoácidos, cambios de pH, y suero pueden inducir la transición de levadura también denominada blastoconidia, a micelio en *C. albicans* (Eckert *et al.*, 2007).



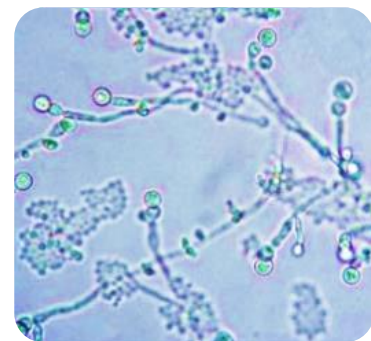
**Figura 1.** Cambios morfológicos en *C. albicans*. Fuente: Laforet, (2010).

#### 2.4 Características del género y especies de *Candida*

El género *Candida* abarca aproximadamente a 150 especies, la mayoría de las cuales no afectan al hombre, entre las especies que si afectan, se encuentran: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. dubliniensis* y son muy frecuentemente aisladas de infecciones en humanos, siendo *C. albicans* la más relevante en términos de patogenicidad (Pfaller y Diekema, 2007).

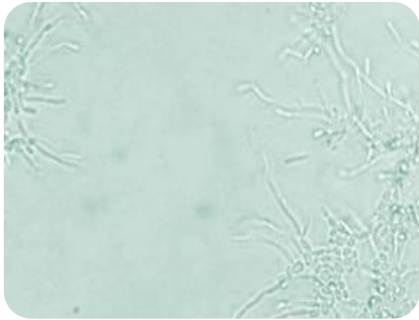
El género *Candida* comprende microorganismos unicelulares globosos u ovoides de 3 a 7 micras y que forma yemas gemantes. Para una identificación específica se realizan pruebas fisiológicas como la producción de pseudomicelio, el desarrollo de tubos germinativos, formación de clamidosporas, zimograma y auxonograma. (Guevara *et al.*, 2007).

*Candida albicans* forma parte de la microbiota normal de las vías gastrointestinales, la mucosa oral (31 a 55%) y vaginal (13% de las mujeres), así como también de la piel periorificial de individuos sanos (25 a 50%). *Candida* vive en equilibrio con otros microorganismos del cuerpo humano, coexistiendo como comensal pero cuando este balance se pierde, se torna patógena causando afección mucocutánea. Los intertrigos y las onicomicosis predominan en mujeres. La vulvovaginitis explica 20 a 30% de las enfermedades ginecológicas; 50% de los casos se observa entre los 20 y 30 años de edad; afecta 13 a 21% de quienes usan anticonceptivos



**Figura 2.** *C. albicans* en azul de metileno, visto a 40x. Fuente: Saúl, (2015).

hormonales y 15 a 47% de las embarazadas, con predominio durante el tercer trimestre. (Arenas, 2003). Microscópicamente en agar harina de maíz es posible la observación de pseudohifas ramificadas con blastoconidios redondos y gemantes, de paredes lisas y con clamidoconidias terminales características de esta especie (Figura 2).

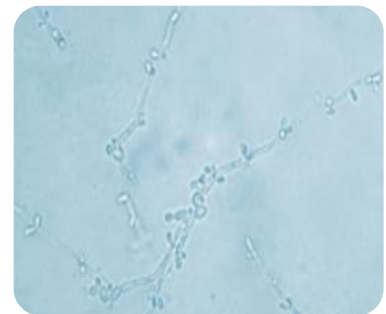


**Figura 3.** *C. parapsilosis* en azul de metileno, visto a 40x. Fuente: Saúl, (2015).

*Candida parapsilosis* es un comensal habitual de la piel, se aísla con mayor frecuencia en pacientes pediátricos, se le ha relacionado tanto con la nutrición parenteral como con el uso prolongado del catéter (mecanismo de transmisión exógena). Es la menos patógena de las especies con una mortalidad atribuible del 30%, mientras que la mortalidad media de las otras especies es del 78%. Sus características microscópicas constan de la producción de pseudohifas ramificadas con blastoconidios pequeños ovalados o alargados (Figura 3), de paredes lisas dispuestos en pequeños racimos a lo largo de la pseudohifa, los blastoconidios pueden presentar gemaciones.

*Candida rugosa* habitualmente produce mastitis bovina, pero también se han descrito casos de fungemias por esta levadura en enfermos inmunodeprimidos, asociada a la utilización de catéter, y colonizaciones de heridas asociadas al uso de nistatina tópica en una Unidad de Quemados por cepas sensibles a anfotericina B y resistentes a nistatina. (Saúl, 2015).

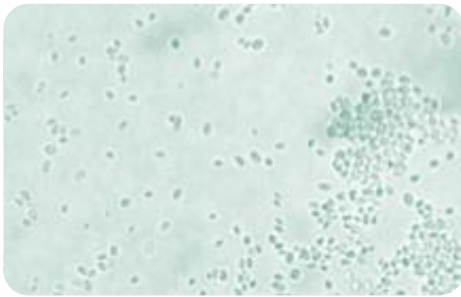
*Candida tropicalis* tiene una capacidad invasora mayor que la de *C. albicans*; se considera que entre el 50-60% de los colonizados por *C. tropicalis* desarrollan candidiasis invasoras. Afecta con más frecuencia a pacientes con enfermedad hematológica o receptores de médula ósea y suele adquirirse, mediante un mecanismo de transmisión endógeno, en los primeros días de hospitalización en ausencia de profilaxis antifúngica. Microscópicamente, sembrada en agar harina de maíz es posible la observación de pseudohifas ramificadas con blastoconidias redondos u ovalados únicos, distribuidos espaciosamente a lo largo de la pseudohifa (Figura 4) (Cantón *et al.*, 2003).



**Figura 4.** *C. tropicaliss* en azul de metileno, visto a 40x. Fuente: Saúl, (2015).

*Candida krusei* y *Candida glabrata* afectan predominantemente a pacientes con antecedentes de profilaxis antifúngica con fluconazol no portadores de catéter y sin antibioterapia. *C. glabrata* es la menos virulenta de todas; sin embargo, es la que presenta la segunda mayor tasa de mortalidad detrás de *C. krusei*; esta última es la especie que se aísla con mayor frecuencia en los pacientes con neoplasia hematológica. *C. glabrata* no produce pseudohifas o pseudomicelio (Figura 5) (Del Valle, 2015).

*C. glabrata* sembrada en agar harina de maíz, microscópicamente se observa blastoconidios pequeños, ovalados, con gemación uni o bipolar, posee paredes lisas y finas. *C. krusei* produce pseudohifas largas, ramificadas, ligeramente gruesas con blastoconidios alargados o cilíndricos, dispuestos como troncos cruzados (Figura 6) (Saúl, 2015).



**Figura 5.** *C. glabrata* en azul de metileno, visto a 40x.  
Fuente: Saúl, (2015).



**Figura 6.** *C. krusei* en azul de metileno, visto a 40x.  
Fuente: Saúl, (2015).

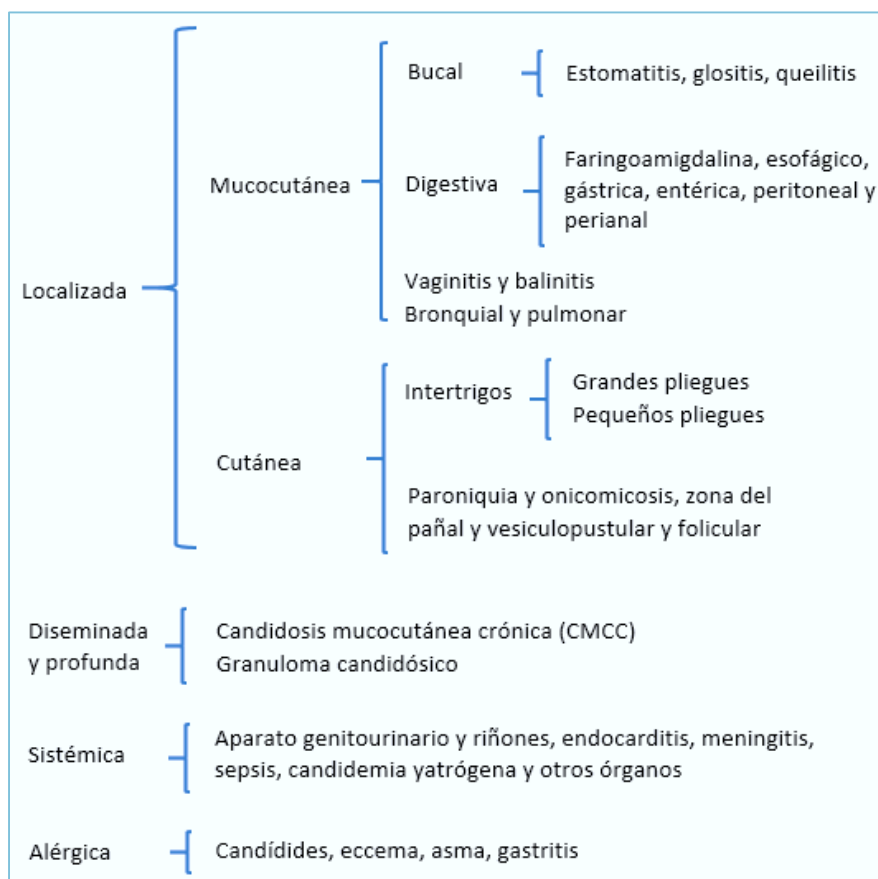
Formando parte de la flora del tracto respiratorio y gastrointestinal se encuentra *Candida lusitanae*. Se han descrito pocos casos de infección nosocomial por esta especie, algunas por mecanismo de transmisión exógeno.

*Candida guilliermondii* forma parte de la microbiota normal o habitual del tracto digestivo de bovinos, caballos, aves, agua de mar, cebolla, cuero de animales pero se han reportado como una levadura emergente que produce fungemia, osteomielitis y peritonitis. En agar harina de maíz produce pequeñas levaduras de 3 a 5 um sin formación de pseudomicelio, a las 96 horas es posible la observación de aglomerados radiales de pseudohifas (Canton *et al.*, 2001).

### 2.4.1 Candidiasis

Las candidiasis son un grupo de infecciones causadas por *Candida albicans* o por otros miembros del género *Candida*; provocando infecciones que van desde trastornos mucocutáneos que no hacen peligrar la vida hasta enfermedades invasivas que pueden afectar a cualquier órgano. La candidemia es la cuarta causa más común de infecciones nosocomiales en el torrente sanguíneo en los Estados Unidos y en gran parte del mundo en vías de desarrollo. La candidiasis invasiva tiene un impacto relevante sobre los resultados de los pacientes, y se ha calculado que la mortalidad atribuible a la candidiasis invasiva representa un porcentaje tan alto como un 47% aunque muchas autoridades calculan que la mortalidad atribuible es de 15% a 25% para adultos y de 10% a 15% para recién nacidos y niños (Pappas *et al.*, 2009).

Las candidiasis se clasifican generalmente en superficiales y profundas (Figura 7). Las candidiasis superficiales afectan principalmente a la piel y a las mucosas oral y genital.



**Figura 7.** Clasificación de las Candidiasis. Fuente: Arenas, (2003).

## 2.4.2 Epidemiología de las candidiasis

Es cosmopolita, se considera una de las infecciones por agentes oportunistas más frecuente en seres humanos. La incidencia ha aumentado durante los últimos 30 años. Entre las micosis, abarca 7.45% y constituye 25% de las micosis superficiales. Afecta a individuos de cualquier edad, grupo étnico o sexo. No tiene relación con el clima, la situación geográfica ni el estado socioeconómico; sin embargo, se han encontrado algunas diferencias regionales, por ejemplo, la candidiasis interdigital de los pies es más frecuente en lugares tropicales y la Onicomycosis sin paroniquia en lugares más fríos. Se presenta en 4 a 18% de los recién nacidos; se han comunicado las modalidades congénitas en prematuros de menos de 1 500 g al nacer; la forma bucal predomina en menores de 10 años de edad y en mayores de 60, en especial mujeres (Arenas, 2003).

Si bien el género *Candida* es cosmopolita, la frecuencia de las especies que afectan al individuo es diferente (Tabla 1), siendo la especie *albicans* la aislada con mayor frecuencia debido probablemente a los factores de virulencia mayores que presenta esta levadura.

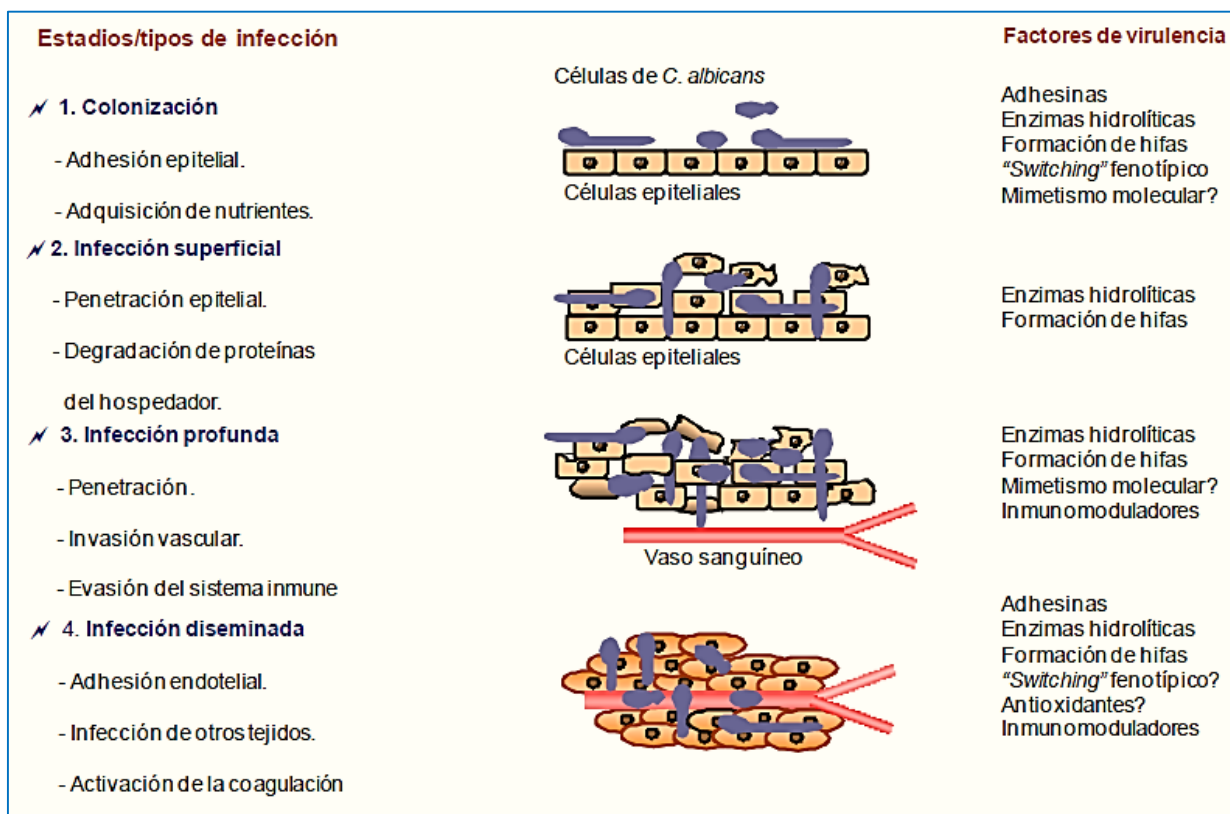
**Tabla 1**  
*Candidiasis: Distribución geográfica*

Distribución de especies de <i>Candida</i> por países según el estudio SENTRY (%)				
Especies	USA	Canadá	América Latina	Europa
<i>C. albicans</i>	55	60	45	58
<i>C. glabrata</i>	21	12	6	10
<i>C. parapsilosis</i>	11	16	25	19
<i>C. tropicalis</i>	9	6	16	7
<i>C. krusei</i>	2	2	1	1
<i>Candida spp.</i>	2	4	7	5

Fuente: Galván, (2006).

### 2.4.3 Factores de virulencia de *Candida albicans*

Las infecciones causadas por *C. albicans* se encuentran condicionadas por diferentes combinaciones de factores de virulencia, y aparecen por una serie de etapas secuenciales como se muestra en la figura 8 (Naglik *et al.*, 2003).

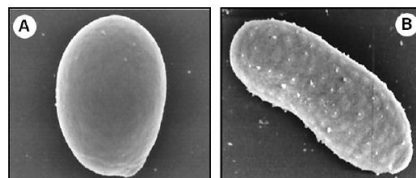


**Figura 8.** Contribución de diferentes factores de virulencia a la patogenicidad de *C. albicans* en las diferentes etapas o tipos de infección. Figura basada en el esquema de Naglik *et al.*, 2003 adaptado en Martín, N. 2006, tesis doctoral.

La adhesión a la superficie de las células del hospedador inicia el proceso facilitando así la colonización del tejido. La hidrofobicidad celular es una propiedad química que favorece el proceso de adhesión celular. Otro factor de virulencia es la secreción de fosfolipasas y aspartilproteasas, como la fosfolipasas P1b1p cuya actividad se localiza en los extremos de las hifas durante la invasión de los tejidos, es necesaria para la virulencia en algunos modelos de candidiasis. Las aspartilproteasas son esenciales en las infecciones sistémicas y de mucosas, estando implicadas en la adherencia y daño tisular. (Calderone y Fonzi, 2001; Naglik, 2003).

La formación de hifas durante el proceso infeccioso facilita la penetración a los tejidos y al mismo tiempo entorpece los mecanismos de fagocitosis de los macrófagos, escapando de esta forma a la acción del sistema inmune. Por otro lado, se ha demostrado que las hifas son más resistentes que las levaduras a la acción proteolítica generada por los macrófagos. Además la forma levaduriforme constituye una excelente forma de diseminación a través del torrente sanguíneo (Blasi *et al.*, 1995; Naglik *et al.*, 2003).

El switching es un cambio fenotípico reversible espontáneo descrito en *C. albicans* y es la llamada transición blanco - opaco. Este cambio es dado por la alteración de varios genes relacionados con virulencia pertenecientes a la familia de las aspartilproteasas como SAP1 y SAP3 característicos de la fase opaca y SAP2 específico de la fase blanca. Las levaduras aisladas de pacientes infectados muestran una frecuencia del proceso de switching mayor que las cepas mantenidas en el laboratorio, lo cual hace pensar en una posible relación entre el desarrollo de la enfermedad y el cambio espontáneo fenotípico (Calderone y Fonzi, 2001) (Figura 9).



**Figura 9.** Transición fenotípica blanco – opaco en *C. albicans*. A) Morfología observada en el microscopio electrónico de barrido de células en la fase blanca y B) de la fase opaca, donde puede observarse la superficie granulada característica de esta fase

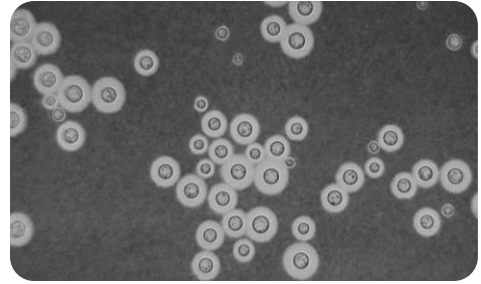
Fuente: Srikantha *et al.*, (2001).

Otro factor de virulencia descrito en *C. albicans* es el tigmotropismo, que es la capacidad de un organismo para adaptar su crecimiento según la topografía del ambiente, en base a esto, las hifas tienden a ubicarse en las irregularidades del tejido favoreciendo su invasión. Otra característica de *C. albicans* es la capacidad que tiene de crecer sobre superficies formando biopelículas o biofilms, las cuales son comunidades estructuradas de microorganismos en los que las células se unen firmemente a una superficie y quedan embebidas en una matriz de sustancias poliméricas extracelulares producidas por estas células. En estas comunidades se han llegado a describir relaciones de sinergismo con bacterias patógenas. Así en algunos biofilms se han observado interacciones físicas entre *C. albicans* y estafilococos, sugiriendo que posiblemente las bacterias estarían impidiendo el contacto de los antifúngicos con la biopelícula, mientras que las células de *C. albicans* dificultarían el acceso de los antibióticos (Dégano, 2011).

## 2.5 Otros géneros de levaduras oportunistas

### 2.5.1 *Cryptococcus*

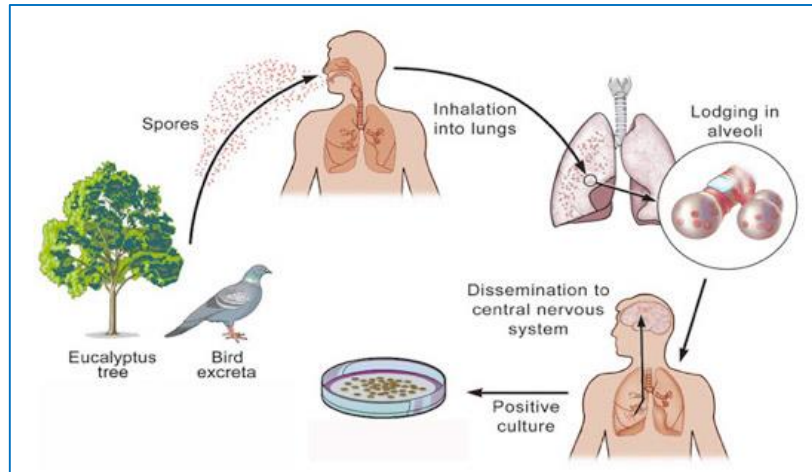
*Cryptococcus neoformans* causa una micosis oportunista denominada criptococosis. Es un hongo levaduriforme de la familia de los Basidiomicetos, posee una cápsula de naturaleza polisacárida (Figura 10) la cual le confiere virulencia, es la responsable de la patogenicidad en el hospedero, puesto que impide la actuación del complemento y la fagocitosis del microorganismo. La producción de la enzima feniloxidasasa por parte del hongo contribuye al neurotropismo del mismo.



**Figura 10.** *Cryptococcus* spp. Tinción negativa con tinta china. Fuente: Wikimedia, (2015).

Su tamaño varía dependiendo de la cepa. A nivel mundial, esta micosis tiene una prevalencia del 3% en América y Europa, y de 20-35 % en África, afecta ambos sexos, siendo más frecuente en individuos entre los 30 y 60 años de edad, principalmente debilitados e inmunosuprimidos. Generalmente el foco primario de infección es pulmonar, pero sus manifestaciones clínicas en la mayoría de los casos se relacionan con el sistema nervioso central (SNC). *Cryptococcus* tiene la capacidad de diseminarse y las lesiones se pueden observar simultáneamente en parénquima cerebral, médula espinal, piel, riñones, hígado, huesos, entre otros. (Mendoza, 2005).

La vía principal de entrada del hongo es la inhalatoria, aunque se ha descrito infección por inoculación directa, por paso a través de la placenta o por contacto directo de persona a persona. (Figura 11). Existen dos especies, con diferencias tanto desde el punto de vista de distribución geográfica como patogénico. *Cryptococcus neoformans* var. *neoformans* y *gattii* afectan a pacientes inmunodeprimidos por causa del VIH, y son de distribución mundial. Por otra parte *Cryptococcus gattii* afecta a pacientes inmunocompetentes y su distribución está más restringida a países tropicales y subtropicales. Las variedades *neoformans* y *gattii* tienen predilección por suelos contaminados con excrementos de aves, especialmente las palomas, y por los árboles de eucalipto. El hábitat de *C. gattii* se asocia con diferentes especies de eucalipto y con otros árboles como almendros, acacias y ficus. (Illnait, 2012).



**Figura 11.** Ciclo vital de *Cryptococcus*. El hongo ingresa en el pulmón y se disemina por vía hematogena hasta SNC produciendo cuadros de meningitis o meningoencefalitis. Fuente: Stuydyblue, (2010).

### 2.5.2 *Trichosporon*

El género *Trichosporon* puede provocar trichosporonosis que es una infección oportunista que produce lesiones superficiales cutáneas y diseminadas en pacientes hospitalizados y/o inmunosuprimidos. Las levaduras del género *Trichosporon* pueden ser aisladas del suelo, agua, vegetales, mamíferos y aves. En el ser humano son miembros de la microbiota comensal de la boca, piel, uñas, sistema gastrointestinal y tracto respiratorio. Como agente patógeno habitualmente causa una infección superficial en la base del pelo conocida como piedra blanca.



**Figura 12.** Microfotografía de *Trichosporon beigeli*, con arthroconidios, uno de los cuales presenta los blastoconidios con brotes característicos desde dos ángulos simulando "orejas de conejo". Fuente: Romero, (2007).

Microscópicamente, en agar harina de maíz (AHM) se observan cadenas de arthroconidios (Figura 12) de tamaño y forma variable generalmente alargadas de 2-3 x 6-9  $\mu\text{m}$ . Cada arthroconidio es capaz de dar por gemación una blastoconidio (blastoarthroconidias). *Trichosporon* se diferencia de *Candida* por producir arthroconidios y de *Geotrichum* por producir blastoarthroconidios. Las colonias de *Trichosporon* presentan un aspecto húmedo y cremoso que con el tiempo se secan con una superficie central finamente plisada o arrugada de coloración que va de blanco, beige a marrón dependiendo de la especie (Arenas, 2003).

### 2.5.3 *Rhodotorula*

Las especies de *Rhodotorula* son contaminantes transportados por el aire que pueden convertirse en comensales de la piel o pueden aislarse en orina y heces. En el pasado las infecciones eran raras; sin embargo, en la actualidad *Rhodotorula rubra* se menciona entre los agentes “emergentes” de infección. La fungemia se asocia con mayor frecuencia con los catéteres colonizados o las soluciones intravenosas contaminadas. Otras infecciones que puede causar son septicemia relacionada con sondas permanentes: meningitis y peritonitis en pacientes que reciben diálisis peritoneal continua.

Es una levadura poco virulenta, de todos los enfermos en los que ha producido fungemia sólo se ha asociado a un caso de muerte. Su identificación es fácil ya que las colonias presentan un color rojo naranja carotenoide (Figura 13) característico de esta especie, microscópicamente presentan levaduras redondas u ovoides con brotes que se disponen en racimos irregulares y laxos, no se forman pseudohifas, la mayoría de las cepas son productoras rápidas de ureasa. (Koneman y Allen, 2008).

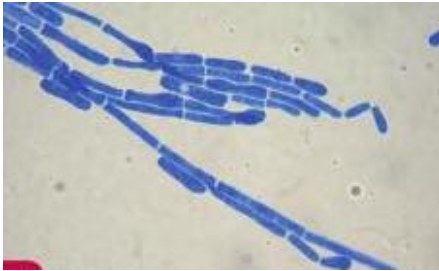


**Figura 13.** Colonias de *Rhodotorula* en agar dextrosa sabouraud. Fuente: Sicilia y Cuesta, (2008).

### 2.5.4 *Geotrichum*

Del género *Geotrichum*, la especie *candidum* se ha asociado con mayor frecuencia con infecciones en el ser humano. Es una levadura oportunista y emergente. Se ha aislado formando parte de la microbiota cutánea y gastrointestinal de los seres humanos. *Geotrichum capitatum* puede aislarse generalmente de muestras cutáneas, digestivas y respiratorias procedentes de personas sanas, pero en los últimos años se han comunicado infecciones diseminadas causadas por esta levadura. Ambos pueden producir geotrichosis que es una infección oportunista

que produce lesiones broncopulmonares, bronquiales, bucales, vaginales, cutáneas y diseminadas, además de fungemias asociadas a catéter. Microscópicamente se observan artroconidios (Figura 14), pero se diferencia de *Trichosporon* por la prueba de urea negativo para *Geotrichum* y positivo para *Trichosporon*. Las colonias de *Geotrichum* son de tamaño ilimitado color blanco amarillento, plana, vellosa, húmeda, y al reverso no presenta pigmentos (Figura 15) (Bonifaz, 2003).



**Figura 14.** Arthroconidios de *Geotrichum*.  
Fuente: Bonifaz, (2003).



**Figura 15.** Colonia de *Geotrichum*.  
Fuente: Bonifaz, (2003).

#### 4. MARCO DE REFERENCIA

Para conocer la incidencia de infecciones urinarias provocadas por *Candida* en México se realizó un estudio en 55 pacientes hospitalizados, con registro de aparición de levaduras en urocultivo, realizado en las instalaciones del Hospital General Dr. Manuel Gea González. Se aislaron levaduras del género *Candida* en 29 casos: *Candida* spp (n=15, 51%), *Candida albicans* (n= 11, 37.9%), *Candida tropicalis* (n=2, 6.8%), *Candida parapsilosis* (n=1, 3.4%). En cuanto al crecimiento por unidades formadoras de colonias (UFC) de los 29 casos, en 11 (38%) fue mayor de 100,000 y en 18 (62%) fue menor de 100,000. (Arenas *et al.*, 2015).

En México llevaron a cabo un estudio en el Hospital General Manuel Gea González, DF (de enero a mayo de 2013) sobre colonización vaginal por *Candida* spp, analizaron 150 muestras de la pared vaginal de mujeres asintomáticas entre 15 y 77 años (promedio 43 años). Se obtuvo cultivo positivo para *Candida* en 19 muestras (12.6%). El 47% de las especies correspondió a *C. albicans*, *C. krusei* (26%), *C. glabrata* (21%) y *C. tropicalis* (15%). (Arenas *et al.*, 2014).

También se realizó un estudio para conocer la cáustica de infecciones por *Cándida* del mismo nosocomio, se abarcó un periodo de enero 2006 -julio 2012. Un total de 4,741 pacientes acudieron al servicio para la confirmación diagnóstica de micosis diversas. De ellos, se corroboró la infección por *Candida* en 510 casos. De ellos, 65.49% correspondió al sexo femenino (334 pacientes), y 34.51% fueron individuos del sexo masculino (176 pacientes). En 44.51% del total (227 pacientes) no se existían enfermedades subyacentes; 55.49% (283 casos) presentaba comorbilidades como: diabetes mellitus (59 pacientes; 20.85%) e hipertensión arterial (52; 18.73%). De este grupo, 26.15% (74) tenían otras enfermedades concomitantes: cáncer pulmonar, neumonía, mucormicosis, hipotiroidismo, cáncer mamario, cardiopatías, retraso mental, entre otras; 63 (22.3%) presentaban más de una enfermedad subyacente; 28 (9.91%) cursaban con enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide y lupus sistémico, en tratamiento con fármacos inmunosupresores (talidomida y azatioprina); 5 pacientes (1.77%) tenían alteraciones psiquiátricas como trastorno depresivo y esquizofrenia; y 2 (0.71%) presentaban manifestaciones cutáneas de atopia. En 271 tipificaron, en orden de frecuencia: *C. albicans* (116 casos; 42.80%); *Candida krusei* (77; 28.41%); *Candida tropicalis* (43; 15.86%) y *Candida glabrata* (35; 12.91%) (Torres *et al.*, 2014).

En el Hospital Juárez de la ciudad de México se realizó un estudio para conocer la incidencia de candidemia en un periodo del 15 de agosto de 2012 al 15 de julio de 2013. Se obtuvieron 18 hemocultivos positivos para crecimiento de *Candida sp.* La principal levadura fue *Candida albicans*; la Unidad de Cuidados Intensivos fue el servicio con más casos. Los principales factores de riesgo de candidemia fueron: nutrición parenteral total, sepsis grave, catéteres venosos centrales y exposición a múltiples antibióticos de amplio espectro. (Martínez *et al.*, 2014).

Para conocer la distribución de *Criptococcus sp* en México se realizó estudio en dos hospitales de concentración en el Distrito Federal. De los 150 aislados estudiados, 118 correspondieron a hombres y 32 a mujeres (proporción 4:1), 60% de los casos estuvieron dentro del grupo de 21 a 40 años de edad. La historia clínica de los pacientes demostró que 119 (79%) padecían SIDA, 13 (9%) tenían como enfermedades de base alguna de las siguientes: tuberculosis pulmonar y tuberculosis meníngea, cirrosis, toxoplasmosis, diabetes mellitus, plaquetopenia; mientras que en 18 sujetos (12 %) no se refirió ningún factor de oportunismo. El 97% de los aislados provinieron de pacientes con cuadro clínico meningo-encefálico. (López *et al.*, 2014).

En el Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga, Romero *et al.*, (2014) llevaron a cabo un estudio en el que se incluyeron todas las muestras para diagnóstico de candidosis provenientes de pacientes ambulatorios y hospitalizados en un periodo de 46 meses. Se estudiaron 1,255 casos de candidosis en un periodo de 46 meses; de ellos, 55 resultaron mixtos (4.4% del total de casos); es decir, causados por más de una especie de *Candida*. El origen de las muestras fue diverso y estuvo compuesto por muestras de tipo pulmonar (28), orofaríngeas (12), de las vías urinarias (11), uñas (2) y oídos (2). De las especies involucradas, *C. albicans* fue la más frecuente, con 43 aislamientos (39%), seguida de *C. glabrata* con 24 (21%), *C. tropicalis* con 20 (18%), *C. krusei* con 12 (11%) y en menor proporción *C. parapsilosis* con 8 (7%), *C. dubliniensis* con 2 (2%) y *C. guilliermondii* y *C. zeylanoides* cada una con un aislamiento (1%). La frecuencia de candidosis mixtas fue de 3.8 a 5.5%. La mayor parte de los casos clínicos mixtos tuvo dos especies (48, 87.3%), pocos tuvieron tres especies (6, 10.9%) y sólo uno (1.8%) involucró cuatro especies. (Bonifaz *et al.*, 2014).

En un hospital en la Ciudad de Buenos Aires se realizó un estudio de cuatro años que incluyó las detecciones de *Candida* en muestras clínicas de pacientes internados al menos 48 h en un

centro neurológico. Se detectaron 321 *Candida spp* de muestras clínicas: *C. albicans* 139 (43,3%) y *Candida no albicans* 182 (56,7%) La distribución de las muestras fue orina 122 (*Candida no albicans* 67,2%), vía aérea 81 y faringe 45 (*C. albicans* 58 y 66,6%, respectivamente), candidemia 40 (*Candida no albicans* 75%: *C. tropicalis* 11, *C. parapsilosis* 9). La comorbilidad más usual fue el tumor sólido (35,5%). Los factores de riesgo hallados más frecuentes fueron el tratamiento antibiótico (85,5%), el tratamiento con esteroides (61,7%) y los pacientes internados en la UCI al diagnóstico (61,6%). El análisis de los factores de riesgo y el aislamiento de *Candida no albicans* muestra que la quimioterapia, la cirugía previa y el tratamiento con aminopenicilinas, carbapenems y glucopéptidos fueron los principales factores de riesgo. (Cornistein *et al.*, 2013)

En el estudio poblacional de candidemia en España, realizado en 29 hospitales de 5 ciudades españolas entre 2010 y 2011 (estudio CANDIPOP) se registraron 752 episodios de candidemia en 729 pacientes. *C. albicans* fue la especie más frecuentemente aislada (45,4%), seguida de *C. parapsilosis* (24,9%), *C. glabrata* (13,4%), *C. tropicalis* (7,7%), *C. krusei* (2,0%) y otras especies (6,5%) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Distribución de especies de *Candida*. (Pemán *et al.*, 2013).

Tabla	Comparación de la distribución de especies causales de candidemia en estudios epidemiológicos poblacionales similares en diferentes años							
	Estudio/Autor	Años estudio	Nº episodios	Porcentaje (%) de aislamientos				
<i>C. albicans</i>				<i>C. parapsilosis</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. krusei</i>	
Pemán <sup>18</sup>	1997-99	290	43	30	8	10	3	6
Fungemyca <sup>15</sup>	2009-10	1377	45	29	11	8	2	5
Almirante <sup>17</sup>	2002-03	345	51	23	9	10	4	3
Candipop*	2010-11	127	51	22	11	6	5	5

Por otra parte, en el mismo estudio se reportó la emergencia de otras levaduras diferentes a *Candida* específicamente en los grupos de pacientes más inmunodeprimidos. Las dos principales especies del género *Cryptococcus*. Otros géneros más raros reportados en patología infecciosa humana, fueron *Trichosporon*, *Saprochaeta*, *Geotrichum*, *Malassezia*, *Saccharomyces* y *Rhodotorula*, se observan principalmente en pacientes inmunodeprimidos, sobre todo enfermos oncológicos y hematológicos o trasplantados que estuvieron sometidos a profilaxis y/o de tratamiento empírico con azoles o con candinas. (Pemán *et al.*, 2013).

## 5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En las últimas décadas se ha producido un incremento de infecciones fúngicas, destacando las levaduras principalmente a nivel intrahospitalario. Dichas levaduras forman parte del microbioma de individuos aparentemente sanos, pero factores como inmunosupresión y hospitalización por enfermedades subyacentes contribuyen a que estas levaduras se comporten como patógenos oportunistas generando un problema de salud pública a nivel global.

Existen varios estudios que documentan la epidemiología de levaduras oportunistas en distintos lugares y grupos de individuos siendo *Candida albicans* el organismo más frecuentemente aislado. Derivando de ahí lineamientos para el manejo e identificación de las mismas para dar un tratamiento dirigido o específico que asegure la erradicación del agente etiológico.

En México, algunas unidades hospitalarias han reportado la incidencia de levaduras patógenas; en Puebla no existen estudios reportados por lo que el presente trabajo pretende trabajar con todas las muestras clínicas para poder conocer y aportar al sistema de salud ¿Cuál es la frecuencia de géneros de las levaduras en pacientes de un hospital de tercer nivel en Puebla?

## 6. JUSTIFICACIÓN

En la actualidad el manejo epidemiológico de levaduras patógenas oportunistas cobra importancia a nivel hospitalario, algunas forman parte de la microbiota, se encuentran en el individuo como comensales pero en pacientes internados u hospitalizados, cuyo sistema inmune se encuentra debilitado o comprometido, las levaduras se comportan como patógenos oportunistas, es decir, necesitan que se lleven a cabo alteraciones en la fisiología, defensas celulares, que haya un desequilibrio en la microbiota o que se encuentren recibiendo tratamiento con fármacos inmunosupresores, para que puedan colonizar al individuo (factores generalmente presentes en pacientes hospitalizados), infectarlo y causarle enfermedad. De ahí radica la importancia de conocer la frecuencia de los géneros y especies aislados de este grupo de individuos, debido a que ha aumentado la incidencia de patologías causadas por las mismas; aunado a la introducción de nuevos medicamentos, surge un cambio en la epidemiología de levaduras patógenas, generando la emergencia de nuevas especies patógenas que convergen o sustituyen a los considerados “habituales”.

Las infecciones provocadas por distintas especies del género *Candida* han sido reportadas como importantes patógenos; sin embargo, la emergencia de otros géneros levaduriformes como *Rhodotorula*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Geotrichum*, cobra relevancia debido a que es necesario una serie de pruebas diferentes para su correcta identificación y que ayudará al sistema de salud para dar un tratamiento dirigido o específico.

En cuanto a las especies de *Candida*, éstas pueden causar el mismo tipo de enfermedad, no obstante, la gravedad y las opciones terapéuticas difieren entre las distintas especies, por ello es tan importante identificar la especie en todos los aislamientos de *Candida* de infecciones graves. Por lo anterior el presente trabajo pretende conocer la frecuencia de infecciones causadas por levaduras en pacientes internados y de consulta externa de un hospital de tercer nivel de Puebla, donde se analizaran muestras de: herida y/o secreción de herida líquida, hemocultivo central y periférico, secreciones bronquiales, cánula de secreción bronquial, expectoración, orina de chorro medio y sonda vesical, punta de catéter, exudado faríngeo, hisopado de traqueotomía, lavado endotraqueal y broncoalveolar, abscesos, secreción ótica y oftálmica, líquidos corporales (LCR, pleural y sinovial) y de diálisis.

## **7. OBJETIVO GENERAL**

Determinar la frecuencia de géneros y especies de levaduras oportunistas obtenidas de diferentes muestras clínicas, causantes de infección en los pacientes de un hospital de tercer nivel de la ciudad de Puebla para conocer la diversidad de levaduras, así como su relevancia en la salud Pública.

## **8. OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Aislar e identificar mediante técnicas microbiológicas levaduras oportunistas obtenidas de diferentes muestras clínicas.
- Diferenciar las muestras clínicas que representen una verdadera infección en el paciente de aquellas que solo representen el crecimiento de la microbiota normal o habitual del paciente.
- Reportar la diversidad de levaduras asociadas a las diversas muestras clínicas.
- Conocer la frecuencia de las levaduras en las diferentes unidades hospitalarias (Unidad de Cuidados Intensivo “UCI”, Unidad de Quemados, Ginecología y Obstetricia, Unidad de Cuidados Intensivos Neonatales “UCIN”, Pediatría, Medicina Interna, Consulta Externa).
- Reportar el aislamiento levaduriforme de acuerdo a la enfermedad subyacente.

## **9. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN**

### **A. TIPO DE ESTUDIO**

Transversal, descriptivo.

### **B. UNIVERSO DE ESTUDIO**

Muestras clínicas de:

Herida y/o secreción de herida líquida, hemocultivo central y periférico, secreciones bronquiales, cánula de secreción bronquial, expectoración, orina de chorro medio y sonda vesical, punta de catéter, exudado faríngeo, hisopado de traqueotomía, lavado endotraqueal y broncoalveolar, abscesos, secreción, líquidos corporales (LCR, pleural y sinovial) y de diálisis, muestras de exudado faríngeo, vaginal, vulvar y uretral.

### **C. TAMAÑO DE MUESTRA**

Recolección de muestras clínicas en el periodo de agosto 2015 a enero 2015 (6 meses)

### **D. SEDE Y LUGAR DEL ESTUDIO**

Laboratorio de Micología del Centro de Investigaciones en Ciencias Microbiológicas de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

### **E. CRITERIOS DE SELECCIÓN**

#### **▪ CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

Muestras clínicas de pacientes, que hayan dado positivo al crecimiento de colonias características de levaduras en medio Agar Sangre de Carnero (ASG), Agar Dextrosa Sabouraud (independientemente de que también haya crecimiento bacteriano) y que al ser observadas con azul de algodón sean positivos de estructuras levaduriformes.

#### **▪ CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

Muestras clínicas, cuyas placas inoculadas de ASG y Agar Dextrosa Sabouraud sólo muestren crecimiento bacteriano.

### **F. RECURSOS HUMANOS**

Estudiante: Berenice Chumacero Moreno

Director: DC. Ricardo Munguía Pérez

Asesor Interno: M.S.P María de la Cruz Meneses Sánchez

### **G. ANÁLISIS ESTADÍSTICO (Descriptivo: graficos y tablas).**

## 10. METODOLOGÍA

### Recolección de muestras

Observar la morfología colonial de las diferentes muestras clínicas inoculadas en placas de agar (MacConkey, dextrosa sabouraud y sangre de carnero) que sean sospechosas de levaduras.

Identificar las muestras clínicas que estén indicando o sugiriendo una infección al paciente de acuerdo a los siguientes criterios:

- De acuerdo a los criterios de Kass y Stanford seleccionar las placas en el caso de urocultivos de sonda vesical que tengan recuentos mayor o igual a 1 UFC/mL, en urocultivos de pacientes ambulatorios seleccionar las placas que tengan >100,000 UFC/mL, en urocultivos de niños seleccionar aquellas que tengan conteos >80,000 UFC/mL y urocultivos de mujeres embarazadas seleccionar las placas con conteos >10,000 UFC/mL.
- De las placas sembradas con catéter deberán seleccionarse aquellas que tengan recuentos >15 UFC de acuerdo a la técnica semicuantitativa de Maki.
- En el caso de muestras de lavado endotraqueal seleccionar las placas con recuentos >10,000 UFC/ mL, muestras de aspirado bronquial y transtraqueal con recuentos >100,00 UFC/mL y lavado bronquial >1000 UFC/mL, además de tomar en cuenta la lectura de la laminilla.
- En el caso de las expectoraciones y/o secreciones (lavado endotraqueal, aspirado bronquial y transtraqueal) seleccionar aquellas placas que tengan en el frotis o laminilla < 10 células epiteliales/ campo en objetivo a 10x (Clasificación de Washington y Murray).
- Las placas sembradas de heridas cuyo índice Q (Anexo 1) sea igual o mayor a +1 deberán de seleccionarse.
- Seleccionar las placas de exudado faringeo, hemocultivos, coprocultivos y tejidos que tengan crecimiento levaduriforme.
- Seleccionar las placas con crecimiento levaduriforme de las muestras vaginales y uretrales cuyas laminillas presenten levaduras, blastoconidios o pseudohifas. (Test de Amsel).

Tomar datos del paciente (edad, sexo, diagnostico)

Transportarlas las muestras al laboratorio de micología.

### **Procesamiento de las muestras**

Observar la morfología microscópica de dichas colonias con azul de algodón.

Resembrar las levaduras en agar dextrosa sabouraud a 28 °C.

Con base a la morfología macro y micro característicos del género *Candida*, sembrar las colonias de 24 a 48 horas en BD Chromoagar para *Candida* (Método enzimático)

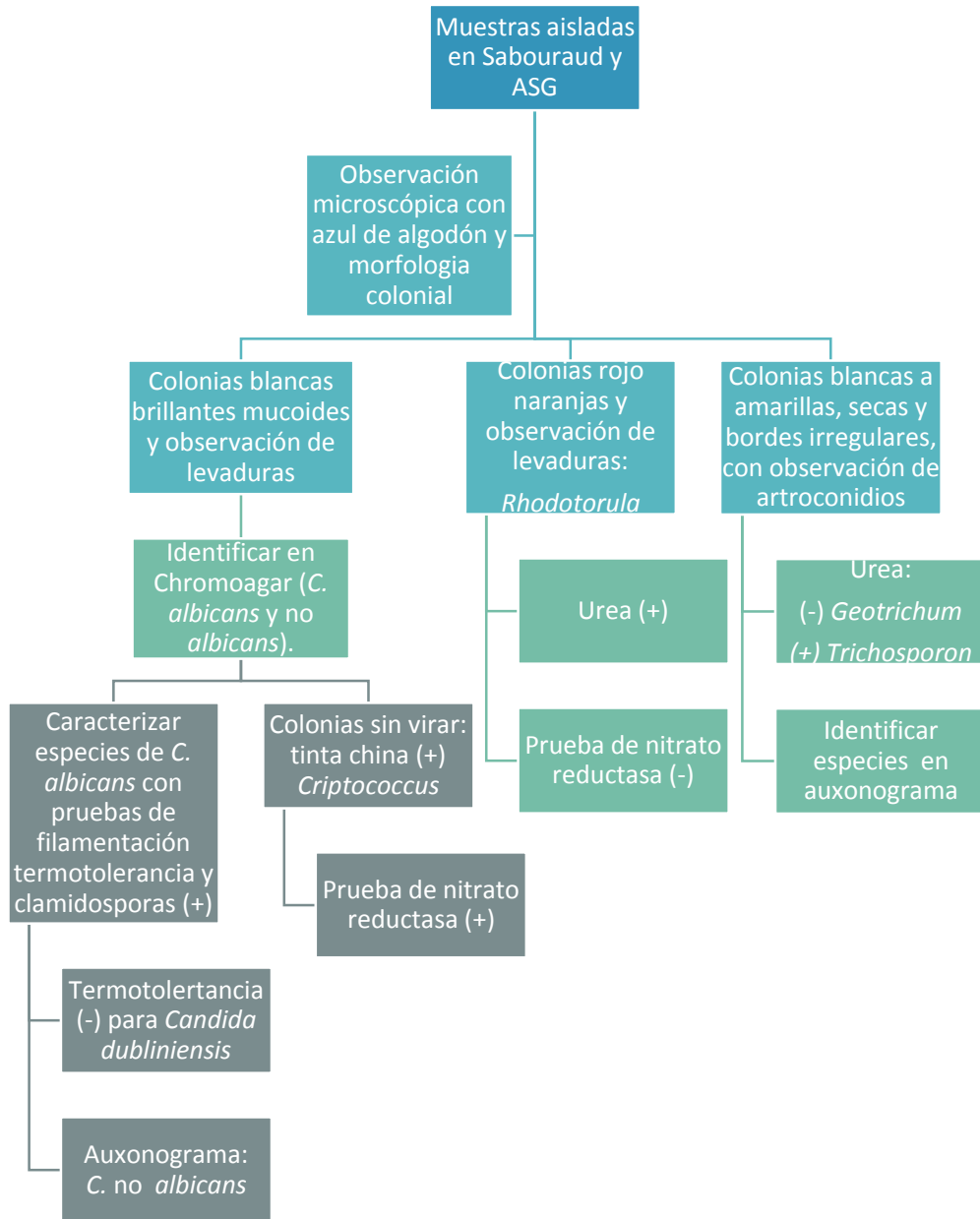
Realizar pruebas biológicas de: clamidosporas, termotolerancia y filamentación para diferenciar especies de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*.

Si en el Chromoagar no crecen colonias características de las especies de *Candida* realizar prueba de auxonograma para su correcta identificación.

Si se observan microscópicamente artrosporas características del género *Trichosporon* y *Geotrichum*, sembrar en urea para diferenciar el género.

Si se observan microscópicamente blastoconidios y levaduras con un halo realizar prueba de tinta china para confirmar la observación de la cápsula característico de *Cryptococcus*. Para identificar la especie realizar prueba de nitrato reductasa que es positivo para *C. neoformans*

## 11. DIAGRAMA DE TRABAJO

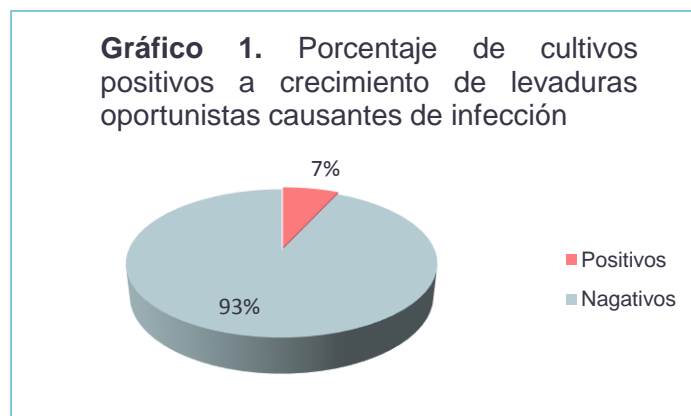


Fuente: Arenas, (2003); Bonifaz, (2003).

## 12. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

- **Cultivos positivos a crecimiento levaduriforme en un periodo de seis meses**

El porcentaje obtenido de cultivos de diversas muestras que mostraron crecimiento positivo a levaduras y que son representativas de una infección en el paciente es relativamente bajo obteniendo un porcentaje de 7% (Gráfico 1), sin embargo si se dividen el número de muestras positivas entre los seis meses de recolección se obtienen aproximadamente 26 muestras al mes que equivalen a casi una muestra positiva a crecimiento levaduriforme al día, resultado que demuestra la relevancia que tienen las levaduras como organismos oportunistas., por otro lado en comparación con en el estudio realizado por Torres *et al.* (2014) en un hospital de la ciudad de México, donde se obtuvo un porcentaje del 10.5 % positivo para crecimiento de *Candida* en un periodo de 6 años, demuestra una incidencia de levaduras parecida a la obtenida en estos resultados.

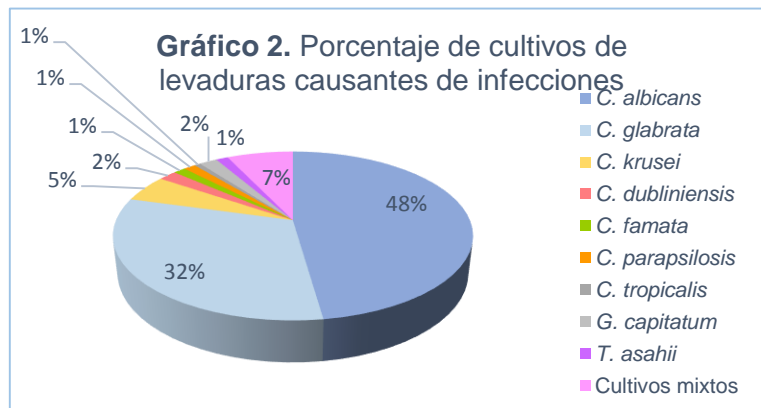


Casos	Muestras	Porcentaje
Positivos	155	7
Negativos	2075	93
Total	2230	100

- **Frecuencia de géneros y especies de levaduras en muestras clínicas causantes de infección**

En el Gráfico 2 se muestra la distribución de levaduras causantes de infección (n=155) en las diferentes muestras clínicas poniendo en evidencia a *Candida* como el género más frecuentemente aislado (la mayoría de las muestras corresponde a este microorganismo), y en particular la especie *albicans* que representa un porcentaje de 48%; Romero *et al.* (2014) y

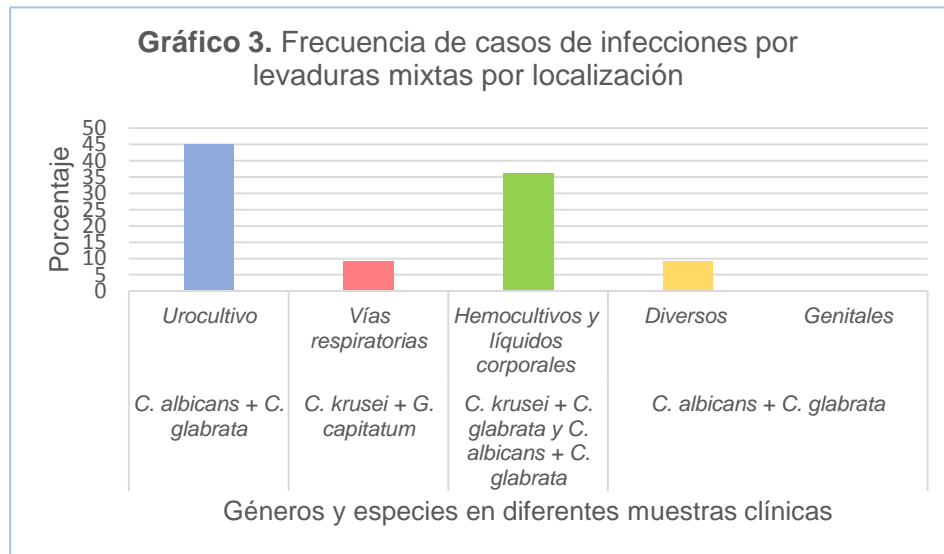
Torres *et al.* (2014) arrojaron resultados similares que se explican ya que *Candida albicans* se encuentra en portadores asintomáticos en mayor porcentaje que otras levaduras y mayormente distribuido en el cuerpo humano, sin embargo *Candida glabrata* también muestra un porcentaje alto y la emergencia de los géneros de *Geotrichum* y *Trichosporon*. Un porcentaje alto (7%) se obtuvo de cultivos mixtos comparado con el estudio realizado por Romero *et al.* (2014) con 4.4% de cultivos positivos a levaduras mixtas; como se sabe pueden existir más de dos levaduras en personas asintomáticas, en este caso en los pacientes el grado de afectación dependerá de las características biológicas que puede requerir el hongo ya sea que se encuentre en una etapa de colonización o fase invasiva y en los pacientes hospitalizados se facilita esto debido a que se encuentran inmunodeprimidos, pudiendo ser afectados por más de un microorganismo, en este caso, levaduras.



- **Casos de infección por cultivos mixtos en muestras clínicas**

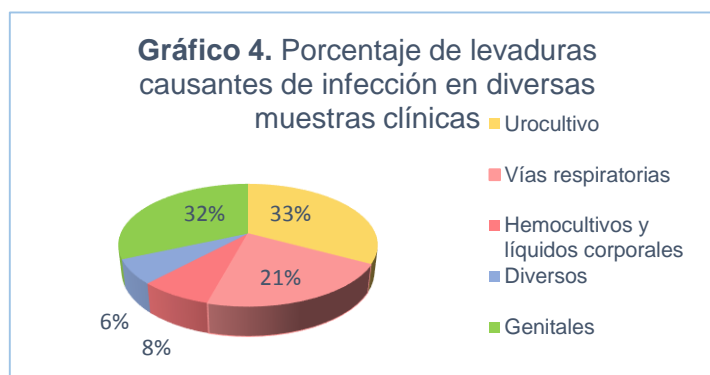
De un total de 11 muestras positivas a crecimiento por levaduras (7%), con respecto a 155 muestras positivas; 5 correspondieron a muestras de urocultivo (45%) (Gráfico 3), 1 a muestras de vías respiratorias (9%), 4 a muestras de hemocultivos y líquidos corporales (37%), y finalmente 1 muestra a cultivos diversos (9%); en este último se incluyen cultivos de herida, catéter, y coprocultivos; en los cultivos de origen vaginal no se aisló más de una levadura. Los urocultivos mostraron un mayor porcentaje de cultivos mixtos seguido de los hemocultivos y líquidos corporales donde se obtuvo más de dos combinaciones de géneros y especies. Este mayor porcentaje en urocultivos se explica en gráficos que a continuación se describirán; debido a que fue uno de los cultivos con mayor número de muestras lo que aumenta la probabilidad de encontrar más combinaciones, sin embargo los cultivos vaginales también mostraron un número

alto de muestras positivas y sin embargo no se aislaron más de dos levaduras debido a que la población de muestras de genitales es en su mayoría corresponden al sexo femenino y se encuentran más propensas a desarrollar una infección por una diversidad de microorganismos. En el caso de los hemocultivos el diagnóstico que corresponde a tres casos de cultivos positivos mixtos es sepsis y a uno corresponde a diagnóstico de craneotomía que indica el oportunismo de las levaduras a pacientes con complicaciones muy graves.



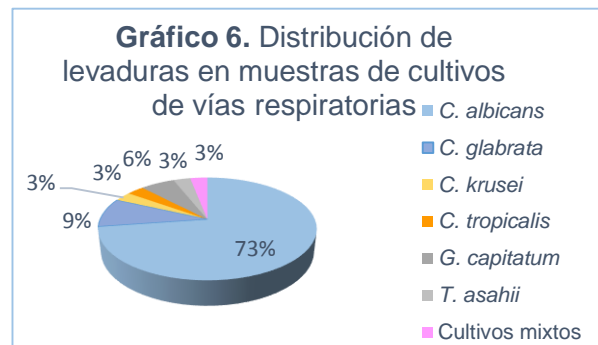
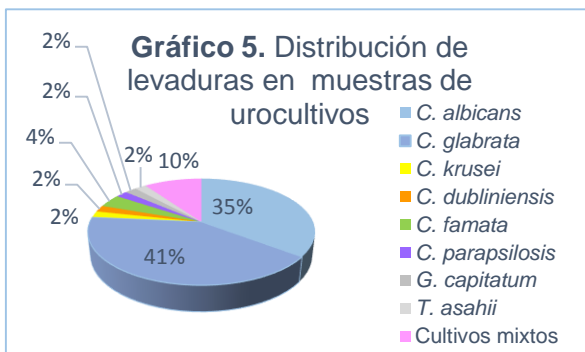
- **Distribución de levaduras en diferentes muestras clínicas**

El origen de las muestras clínicas (Gráfico 4) fue de orina (33%), de ese total se incluyen muestras de sonda vesical (88%) y de chorro medio (22%); vías respiratorias (21%) que incluye muestras de expectoración (49%), aspirado transtraqueal (30%), lavado endotraqueal y exudados faríngeos (12%) y otros: secreción bronquial y cánula de secreción bronquial (9%);



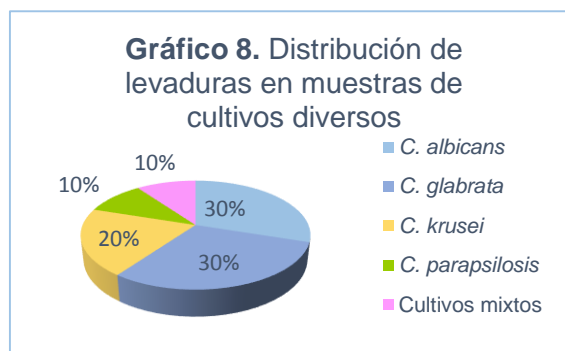
genitales (32%), cuyas muestras son exudados vaginales (96%) y uretrales (4%); hemocultivos y líquidos corporales (8%), con hemocultivos centrales y periféricos (67%), los líquidos sembrados fueron de origen peritoneal (25%) y en menor porcentaje muestras de origen diverso (8%), que incluyen a catéter (50%), coprocultivo (30%) y heridas (20%) . La afectación de género *Candida* a pacientes hospitalizados con dispositivos tales como sonda vesical, catéter, cánulas de secreción bronquial pone de manifiesto el oportunismo de este lavado y cómo estos dispositivos son ocupados como sustratos de la levadura para formar biopelículas (Laforet, 2009) haciendo que el paciente corra un alto riesgo de padecer infecciones invasoras que se comprueban con el porcentaje de hemocultivos y líquidos corporales cuyo porcentaje mayoritario lo ocupó los hemocultivos (77%) que se explican por los diversos factores de virulencia explicados por Bonifaz *et al.* (2014) como las pseudohifas, que les permite evadir la fagocitosis, tener capacidad invasiva en mayor o menor grado y otros que varían como característica de especie a especie; también describen a *C. albicans* con la mayor capacidad de generar biopelículas por lo que es más patógena que otras especies y que se aisló con más frecuencia.

La distribución de géneros y especies aisladas en el origen de las muestras es muy variada, mostrándose una mayor diversidad de levaduras en urocultivos (Gráfico 5) y una menor diversidad en cultivos de genitales (Gráfico 9). Hasta 2003 Bonifaz había reportado a *Geotrichum candidum* como la especie más frecuentemente aislada de este género causante de infecciones en el humano seguida de *Geotrichum capitatum* sin embargo en los resultados obtenidos se muestra a esta especie como emergente, (Figuras 5 y 6).



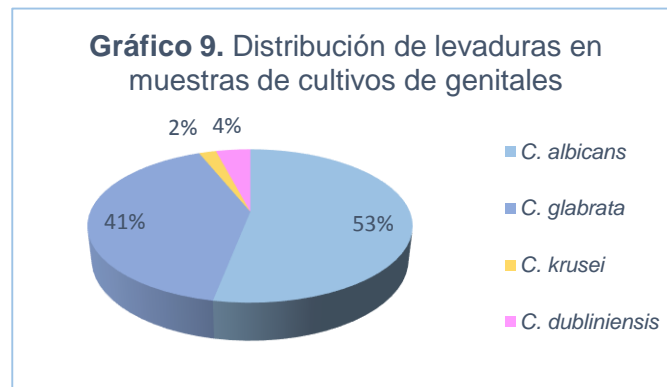
Los aislamientos de *Trichosporon asahii* provienen de muestras de origen de vías respiratorias y tracto genitourinario que demuestran el dinamismo que poseen para adaptarse a los diferentes microambientes y proliferar llegando a provocar un daño, datos que concuerdan con los estudios realizados por Pemán *et al.* (2013) donde se menciona a esta levadura como patógeno emergente.

El género *Candida* fue la levadura que se encontró con mayor frecuencia en la mayoría de las muestras como lo reportado en varios estudios de México, España y Argentina, debido a que posee mayor cantidad de factores de virulencia y en particular *Candida albicans* es la que se le confiere el mayor número de estos factores, en segundo lugar se encuentra *Candida glabrata* con mayor número de factores de virulencia descrito por Laforet (2009) y esto se observa en los resultados (Gráficos 6, 7, 8 y 9), sin embargo en urocultivos esta levadura fue la mayormente aislada, como no existe estudios que demuestren que *C. albicans* era la más frecuentemente aislada en el estado de Puebla no es posible asegurar que haya un cambio en la epidemiología de la zona, pero por otra parte se podría comparar con estudios realizados por Arenas *et al.* (2015) donde la población y por tanto la epigenética poblacional es similar, obteniéndose al género *Candida* como la mayormente aislada en urocultivos.



Los cultivos de origen de tracto urinario (Gráfico 6) fueron los que representaron el mayor número de muestras que coinciden con lo reportado por Cornistein *et al.* (2013), aunque no especifica el origen de las muestras (si se trata de orina de chorro medio o sonda vesical), este origen pudo haber sido un factor importante para que el paciente desarrolle una infección. Arenas *et al.* (2015) reportan a *Candida* como el género principalmente aislado, al igual que los estudios de Cornistein *et al.* (2013); seguida de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*

en urocultivos, lo que difiere de los resultados ya que la levadura mayormente aislada fue *C. glabrata*, Del Valle (2015) la describe en la actualidad como patógeno oportunista emergente. La distribución de levaduras en las muestras clínicas es similar a la reportado en un estudio multicentrico por Pfaller y Diekema (2007) siendo los aislados de sangre, orina y muestras genitales los mayormente reportados, debido a la presencia en portadores asintomáticos en estos sitios de aislamientos con excepción de muestras sanguíneas.

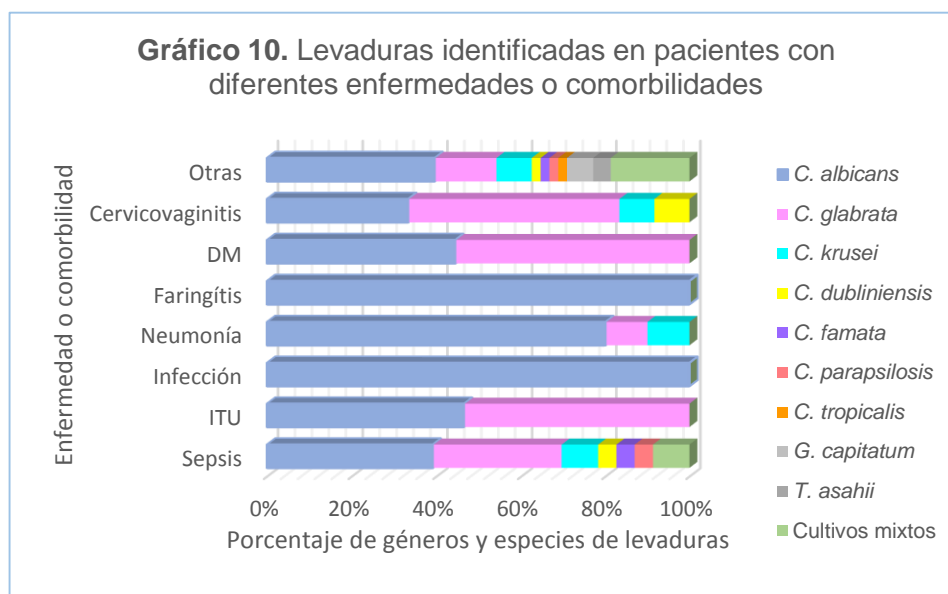


- **Distribución de levaduras por comorbilidad**

El rubro de “otras” comorbilidades fue el que mostró un mayor porcentaje entre los pacientes (31%) (Gráfico 10), incluyéndose trastornos tales como diarrea, anemia, pielonefritis, embarazo, asma, quemadura, craneotomía y miomas; seguida de infecciones de tracto urinario con (28%); sepsis (15%); cervicovaginitis (8%); diabetes mellitus y neumonía con (6% respectivamente) y finalmente faringitis e infección (3% respectivamente). Éstas comorbilidades pone en evidencia la capacidad que tiene las levaduras para aprovecharse y causar daño al paciente pasando desde una infección de tracto urinario que parecería o poco relevante para el paciente y donde el individuo no se encuentra con un grado de inmunodepresión significativo hasta llegar a afectar a pacientes con diagnóstico de craneotomía que indica un grado de inmunodepresión considerable.

Los estudios realizados por Torres *et al.* (2014) reportan la hipertensión arterial y diabetes como principales enfermedades suyacentes y en menor porcentaje al cáncer pulmonar, neumonía, mucormicosis, hipotiroidismo, cáncer mamario, cardiopatías, retraso mental, síndrome de Stevens-Johnson e implante timpánico; resultados que difieren con los obtenidos,

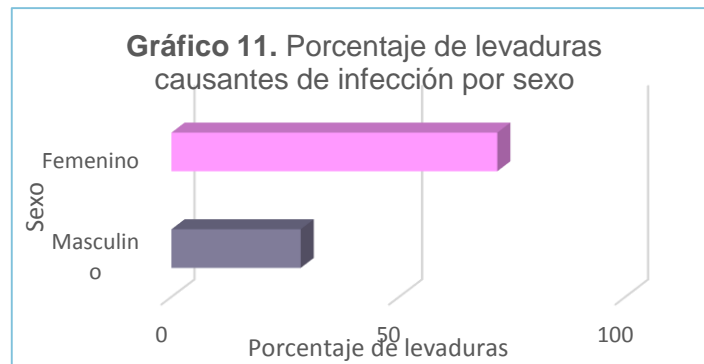
pero demuestra la capacidad de infección que poseen las levaduras para afectar a pacientes con una diversidad de trastornos o enfermedades, además de que se demuestra un número más elevado de especies que puede causar sepsis en comparación con las demás enfermedades o trastornos reportados (Gráfico 10).



*Candida* fue el género con mayor frecuencia de aislamientos en las diferentes enfermedades o comorbilidades (Gráfico 10), Martínez *et al.* (2014) reportan como principales factores de riesgo para desarrollar candidemia a: nutrición parenteral total, sepsis grave, catéteres venosos centrales y exposición a múltiples antibióticos de amplio espectro que concuerda con los resultados obtenidos, ya que un porcentaje del 17% de los pacientes se reportó con tratamiento a antibióticos de amplio espectro, inmunodeprimiendo al paciente. Los factores del huésped descritos por Pemán *et al.* (2014), juegan un papel muy importante para desarrollar el oportunismo de las levaduras, tal es el estado neto de la inmunosupresión, la disfunción de órganos vitales, la colonización microbiana y la reactivación de infecciones latentes, hace que existan dentro de la unidad hospitalaria grupos de alto y bajo riesgo para desarrollar una infección, en el caso de los trastornos o comorbilidades estos grupos serían aquellos pacientes con sepsis y el rubro de “otros” cuyos pacientes cursaban con quemaduras o craneotomías, evidenciándose la susceptibilidad de estos pacientes con un mayor número de levaduras aisladas en ellos.

- **Distribución de levaduras por sexo**

Las infecciones provocadas por levaduras han sido ampliamente reconocidas por presentarse en mayor proporción en mujeres que en hombres, (Gráfico 11) que se comprueba con los estudios realizados por Guerrero *et al.* (2014) esta diferencia se ve principalmente asociada a infecciones genitourinarias en donde la susceptibilidad de las mujeres a contraer la infección es a causa de multiples factores. Se considera que hombres y mujeres son portadores asintomáticos de ciertos géneros de levaduras en tracto gastrointestinal, aparato reproductor y piel. Pero existen factores de riesgo que en las mujeres aumentan las probabilidades de contraer una infección a causa de levaduras oportunistas que afectan principalmente los genitales, estos factores incluyen el embarazo y los cambios hormonales que se dan en esta etapa y en la menopausia, el uso de anticonceptivos orales e incluso se ha reportado el uso de dispositivos intrauterinos como factor asociado. Asimismo, la diabetes tipo 2 es otro factor importante, ya que existe mayor incidencia de esta enfermedad en mujeres que en hombres, es bien conocido que en pacientes diabéticos, la glucosa se encuentra incrementada en las secreciones vaginales y orina, esta condición, predispone la adhesión y crecimiento de levaduras sobreviniendo la infección.



- **Distribución de levaduras por grupo de edad**

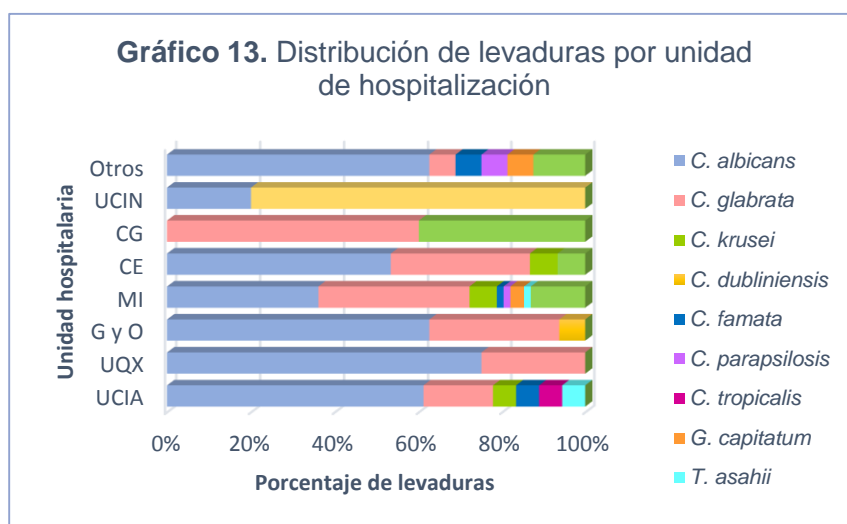
La población más afectada por levaduras de acuerdo a la edad fueron aquellos pacientes mayores de 40 años (55%) (Gráfico 12) aunado a que los pacientes se encuentran con cierto grado de inmunodepresión por las enfermedades o trastornos concomitantes hacen que esta población se encuentre más susceptible a infectarse por levaduras, Pemán *et al.* (2013) reportan en su estudio la edad de mayor de 40 años como uno de los factores que constituyen un grupo de alto riesgo para desarrollar una enfermedad fúngica invasora que coincide con

los resultados, sin embargo los resultados difieren con los estudios realizados por Guerrero *et al.* (2014) ya que los adultos jóvenes reportaron la mayor frecuencia de afectación por levaduras.



- **Distribución de levaduras por unidad de hospitalización**

La unidad hospitalaria que mostró un mayor porcentaje de aislamientos de levaduras fue medicina interna (38%), seguida de ginecología y obstetra (21%), unidad de cuidados intensivos adultos (12%), consulta externa (10%), unidad de cuidados intensivos neonatales, cirugía general y unidad de quemados (3% respectivamente) y otros (10%) donde se incluyen unidades que mostraron menor cantidad de aislamientos de levaduras, las cuales fueron urgencias, ortopedia, pediatría, en cuanto al porcentaje de especies en las distintas unidades (Gráfico 13).



UCIA: Unidad de cuidados intensivos adultos; UQX: Unidad de quemados; G y O: Ginecología y obstetra; MI: Medicina interna; CE: Consulta externa; CG: Cirugía general; OTRO: Urgencias, Ortopedia, Unidad de cuidados intensivos neonatales.

Los datos coinciden con lo reportado por Pemán *et al.* (2013), ya que la distribución de los agentes patógenos causantes de enfermedad fúngica invasora oportunista varía en función de las condiciones previas de los pacientes y de la unidad de hospitalización, las infecciones por *Candida spp* fueron las más frecuentes en la mayoría de unidades de hospitalización y en los distintos tipos de pacientes, datos que también concuerdan con los estudios de Torres *et al.* (2014). *C. albicans* fue la especie predominante en todas las unidades hospitalarias seguida de *C. glabrata* que en estudios de Del Valle (2015), esta levadura cobra importancia debido a que es frecuentemente aislada en la unidad de cuidados intensivo, y cirugía general, por su inherente y elevada tolerancia a los azoles, la presencia de adhesinas, adaptación al ambiente ácido del fagolisosoma y supervivencia fagolisomal.

### 13. CONCLUSIONES

El estudio arrojó una frecuencia relativamente baja de levaduras oportunistas causantes de infecciones pero significativa.

El género *Candida* fue el más frecuentemente aislado y particular la especie *albicans*.

En las muestras de urocultivos *Candida glabrata* fue la levadura más frecuentemente aislada

Las muestras que presentaron menor diversidad de levaduras fueron los hemocultivos, líquidos corporales y genitales, las muestras que presentaron mayor diversidad fueron los urocultivos y vías respiratorias.

Es importante conocer los géneros y especies de levaduras cuya importancia sería enfatizar en cultivos mixtos ya que la opción terapéutica sería reducida y tanto en cultivos mixtos y con solo un crecimiento levaduriforme tendría que ser más específica.

*Trichosporon asahii* y *Geotrichum candidum* fueron las especies encontradas en cuanto a levaduras emergentes.

Las infecciones de tracto urinario fueron la principal enfermedad subyacente.

Las infecciones por levaduras afectan con mayor frecuencia a mujeres y personas mayores a 40 años.

Medicina interna fue la unidad hospitalaria con mayor porcentaje de levaduras, además de que presentó una mayor diversidad de las mismas.

## 14. BIBLIOGRAFÍA

- Arenas, R. (2003). *Micología médica ilustrada*. McGraw-Hill Interamericana.
- Arenas, R., Solís, M., Moreno, M., Dávalos, M., Fernández, R., & Flores, O. (2014). Colonización vaginal por *Candida* spp. Frecuencia y descripción de las especies aisladas en mujeres asintomáticas. *Ginecol Obstet Mex*, 82, 1-8.
- Arenas, R., Vega, D., Bernal, L., & Villanueva, S., (2015). Infecciones urinarias por *Candida* spp. estudio de 29 pacientes en un hospital general. *Medicina Interna de México*, 31(1).
- Blasi, E., Pitzurra, L., Chimienti, A. R., Mazolla, R., Puliti, M., Barluzzi, R. & Bistoni, F. (1995). Differential susceptibility of yeast and hyphal forms of *Candida albicans* to proteolytic activity of macrophages. *Infection and immunity* 63, 1253 -1257.
- Bonifaz, A. (2003). *Micología Médica básica*. Méndez Editores.
- Bonifaz, A., Romero, A., Araiza, J., Hernández, A., Cerón, M., & Ponce, M. (2014). Candidosis mixtas en aislamientos clínicos de pacientes procedentes del Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga; identificación e importancia. *Órgano de la Sociedad Mexicana de Dermatología y de la Academia Mexicana de Dermatología* [www.nietoeditores.com.mx](http://www.nietoeditores.com.mx), 58(3), 239-246.
- Calderone, R. A & Fonzi, W. A. (2001). *Virulence factors of Candida albicans*. Trends in microbiology 9, 327 – 335.
- Canton, E., Viudes, A., & Pemán, J. (2001). Infección sistémica nosocomial por levaduras. *Rev Iberoam Micol*, 18, 51-55.
- Cornistein, W., Mora, A., Orellana, N., Capparelli, F. J., & del Castillo, M. (2013). *Candida*: epidemiología y factores de riesgo para especies no albicans. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 31(6), 380-384.
- Dégano, R. (2011). Acetiltransferasas de histonas en *Candida albicans*: Análisis del Perfil transcripcional.
- Del Valle, G. (2015). *Candida glabrata*: un patógeno emergente. *Biociencias*, 10(1).
- Eckert, S., Sheth, C., y Mühlischlegel, F. (2007). Reglamento de la morfogénesis de las especies de *Candida*. *Candida*. Genómica comparativa y funcional, 263-291.
- Galván, B., & Mariscal, F. (2006). Epidemiología de la candidemia en UCI. *Revista iberoamericana de micología*, 23(1), 12-15.

- Guerrero, E. T., del Mercado, E. V., & Arenas, R. (2014). Infecciones por *Candida spp* en un hospital de segundo nivel: datos clínico-epidemiológicos y tipificación. *Dermatología*, 12(1), 18-23.
- Guevara, M., Urcia, F., & Casquero, J. (2007). Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas. *Lima: Instituto Nacional de Salud*.
- Illnait, Z. (2012). *Caracterización genotípica y susceptibilidad a antifúngicos de aislamientos cubanos de Cryptococcus* (Doctoral dissertation, Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kourí”).
- Koneman, E., & Allen, S. (2008). *Koneman. Diagnóstico Microbiológico/Microbiological diagnosis: Texto Y Atlas En Color/Text and Color Atlas*. Ed. Médica Panamericana.
- Laforet, A. (2009). Estudio de Pga26, una proteína implicada en la arquitectura de la pared celular de *Candida albicans*.
- Lop, H., Valdés, V., Vivanco, M., & Zuazo, S. (2001). Microbiología y Parasitología Médicas. *Tomo I. Editorial Ciencias Médicas. Cuba. Pag, 387, 404-415*.
- López, R., Córdova, E., Bazán, E., Mondragón, A., Ángeles, V., García, P., & Castañón, R. (2014). Frecuencia de serotipos de *Cryptococcus neoformans/C. gattii* en México.
- Matkoski, C., Sharp, SE., y Kiska, D. (2006). Evaluation of the Q score and Q234 systems for cost-effective and clinically relevant interpretation of wound cultures. *Journal of clinical microbiology*, 44(5), 1869-1872.
- Mendoza, M. (2005). Importancia de la identificación de levaduras. *Rev. Soc. Venez. Microbiol*, 25(1), 15-23.
- Martínez, M., De la Torre, V., & Reséndez, J. (2014). Factores de riesgo y epidemiología de la candidemia en el Hospital Juárez de México. *Medicina interna de México*, 30(2).
- Naglik, J., Challacombe, J., & Hube, B. (2003). *Candida albicans secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. Microbiol Mol Biol Rev* 67, 400 – 428, table of contents.
- Pappas, P., Kauffman, A., Andes, D., Benjamin, K., Calandra, F., Edwards, E., & Reboli, C. (2009). Guías de práctica clínica para el manejo de la candidiasis: actualización del

2009, de la Infectious Diseases Society of America. *Clinical infectious diseases*, 48(5), 503-537.

- Pemán, J., Zaragoza, R., & Salavert, M. (2013). Control y prevención de las infecciones nosocomiales y asociadas a cuidados sanitarios causadas por especies de *Candida* y otras levaduras. *Rev Esp Quimioter*, 26(4), 298-311.
- Pfaller, A., & Diekema, J. (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: A persistent public health problem. *Clin Microbiol Rev*. 20(1), 133-163.
- Romero, R. (2007). Microbiología y Parasitología Humana, Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3ª Edición. Barcelona: Médica Panamericana.
- Saúl, Y. (2015). *Candidiasis*. Noviembre 15, 2015, de Universidad Central de Venezuela Sitio web: <http://es.slideshare.net/yotsabeth/candidiasis-51481143>
- Sicilia, L., & Cuesta, F. (2008). Identificación de levaduras 11.
- Srikantha, T., Tsai, L., Daniels, K., Klar, A.J. S. & Soll, D.R. (2001). The histone deacetylase genes HDA1 and RPD3 play distinct roles in regulation of high frequency phenotypic switching in *Candida albicans*. *Journal of bacteriology* 183, No.15, 4614 – 4625.
- Studyblue, (2010). Ciclo vital de *Cryptococcus*. [image] Available at: <https://www.studyblue.com/notes/note/n/fungi/deck/10740587> [Accessed 28 Oct. 2015].
- Torres, G., E., Vásquez, M., E., & Arenas, R. (2014). Infecciones por *Candida* spp en un hospital de segundo nivel: datos clínico-epidemiológicos y tipificación. *Dermatología cosmética, médica y quirúrgica*, 12 (1), 18-23.
- Wikimedia, (2015). *Cryptococcus* en tinta china, vista a 40X. [image] Available at: [https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6f/Cryptococcus\\_neoformans\\_using\\_a\\_light\\_India\\_ink\\_staining\\_preparation\\_PHIL\\_3771\\_lores.jpg](https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/6/6f/Cryptococcus_neoformans_using_a_light_India_ink_staining_preparation_PHIL_3771_lores.jpg) [Accessed 5 Nov. 2015].

## Anexo 1

Análisis de la calidad de las muestras de heridas					
Calidad de las células a 10X por campo					
Número de neutrófilos	Valor Q para el Número de neutrofilos	Valor Q para el número de células epiteliales escamosas presentes en la muestra			
		0	1-9	10-24	>25
		0	-1	-2	-3
0	0	(1)	0	0	0
1-9	+1	1	0	-1	-2
10-24	+2	+2	+1	0	-1
>25	+3	+3	+2	+1	0

Fuente: Matkoski, *et al.*, (2006).