

Distribución de los perfiles de susceptibilidad antifúngica de especies de *Candida* aisladas de pacientes adultos en Unidad de Cuidados Intensivos y sus factores asociados.

Edimerk Mauricio Gil Güiza

Trabajo de Grado para optar al Título de
Magíster en Microbiología

Directora

Clara Inés Sánchez Suárez

PhD. en Microbiología y Genética Molecular

Codirectora

Laura Viviana Herrera Sandoval

MSc. en Ciencias Básicas Biomédicas

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Salud

Escuela de Microbiología

Maestría en Microbiología

Bucaramanga

2024

Dedicatoria

Este trabajo va dedicado a las personas que día a día creen en la persona que puedo llegar a ser y me han acompañado en este proceso.

A mi mamá, papá y hermanos, que son mi apoyo incondicional. A mis mejores amigas Eliana C, Camila, Stefany, Eliana M, Estefanía y Juliana. Mujeres valientes que me inspiran a luchar por mis sueños. A Andrés C, por demostrarme que el amor es la mejor cura para el alma.

Y sobre todo, a mí mismo, por no darme por vencido.

Agradecimientos

A mi directora, Clara Inés Sánchez Suárez, por recibirme en el laboratorio de Hongos 404, guiarme en este proceso y compartirme su pasión por el mundo de la Micología.

A mi codirectora Laura Herrera por guiarme y compartirme su conocimiento durante el desarrollo de esta investigación. A mis compañeros del laboratorio 404 por su compañía y apoyo durante esta etapa.

Al Hospital Universitario de Santander y a los investigadores del proyecto “Desarrollo de una estrategia de medicina personalizada para el manejo preventivo, diagnóstico y tratamiento de candidiasis en Unidades de Cuidados Intensivos de adultos en el área metropolitana de Bucaramanga” por contribuir a la ejecución de este trabajo.

A la Universidad Industrial de Santander, la escuela de Microbiología, al Centro de estudios e investigaciones Ambientales (CEIAM) por los laboratorios, equipos e insumos.

Al ministerio de Ciencias, por los recursos y el apoyo económico para realizar mi posgrado a través del proyecto 86269 de la convocatoria 897 – 2021 para proyectos de CTEI.

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	15
1. Marco conceptual y estado del arte	19
1.1 Generalidades de <i>Candida</i> spp.	19
1.2 Candidiasis en pacientes de UCI	19
1.2.1 Antifúngicos para el tratamiento de la Candidiasis	20
1.2.1.1 Azoles	20
1.2.1.2 Polienos.	21
1.2.1.3 Equinocandinas.	21
1.2.1.4 Derivados de pirimidinas.	22
1.3 Resistencia antifúngica en <i>Candida</i> spp.	24
1.3.1 Resistencia frente a los azoles	24
1.3.1.1 Alteración de la enzima Lanosterol 14 α -desmetilasa	25
1.3.1.2 Sobreexpresión del blanco farmacológico.	25
1.3.1.3 Activación de bombas de eflujo.	25
1.3.1.4 Alteración de la biosíntesis de ergosterol.	26
1.3.1.5 Plasticidad genómica.	27
1.3.2 Resistencia frente a los polienos	29
1.3.3 Resistencia frente a las equinocandinas	31
1.3.4 Resistencia frente a las pirimidinas	33
1.4 Pruebas de susceptibilidad en levaduras	35

2. Objetivos	37
2.1 Objetivo general	37
2.2 Objetivos específicos	37
3. Metodología	38
3.1 Diseño y generalidades del estudio	38
3.2 Caracterización clínica y sociodemográfica de los pacientes	39
3.3 Recuperación de los aislamientos de <i>Candida</i> spp.	39
3.4 Evaluación de la susceptibilidad antifúngica	39
3.4.1 Técnica de microdilución en caldo	40
3.4.1.1 Preparación de las microplacas con antifúngicos	40
3.4.1.2 Preparación del inóculo y condiciones de incubación	41
3.4.1.3 Lectura e interpretación de los resultados	41
3.4.1.4 Control de calidad	42
3.5 Análisis estadísticos	43
4. Aspectos éticos	43
5. Resultados	45
5.1 Caracterización de los pacientes de UCI	45
5.3 Prevalencia de los perfiles de susceptibilidad antifúngica	48
5.3.1 Perfil de susceptibilidad frente a los azoles	49
5.3.2 Perfil de susceptibilidad frente a las equinocandinas	50
5.3.3 Perfil de susceptibilidad frente a polienos y pirimidinas	51
5.4 Factores asociados con resistencia antifúngica en <i>Candida</i> spp.	55
6. Discusión	59

6. Conclusiones	63
7. Recomendaciones	65
Bibliografía	66
Apéndices	77

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1. <i>Características clínicas y sociodemográficas de los pacientes de UCI</i>	45
Tabla 2. <i>Perfiles de susceptibilidad antifúngica de Candida spp. de acuerdo con los puntos de corte clínicos (CCVs).</i>	52
Tabla 3. <i>Perfiles de susceptibilidad de los aislamientos de Candida spp. de acuerdo con los puntos de corte epidemiológicos (ECVs) del CLSI.</i>	54
Tabla 4. <i>Análisis bivariado de los factores clínicos y sociodemográficos asociados con resistencia en Candida spp.</i>	56
Tabla 5. <i>Modelo de regresión logística propuesto</i>	58

Lista de Figuras

Figura 1. <i>Mecanismos de acción de las diferentes clases de antifúngicos.</i>	23
Figura 2. <i>Mecanismos de resistencia frente a los azoles</i>	28
Figura 3. <i>Mutaciones asociadas con la resistencia frente a los polienos</i>	30
Figura 4. <i>Mecanismo de resistencia frente a las equinocandinas.</i>	32
Figura 5. <i>Mecanismo molecular de resistencia frente a la flucitosina.</i>	34
Figura 6. <i>Interpretación visual de la CIM en las placas de microdilución.</i>	42
Figura 7. <i>Curva ROC (receiver operating characteristic curve)</i>	58

Lista de Apéndices

	pág.
Apéndice A <i>Formato para la recolección de la información clínica y sociodemográfica de los pacientes de la UCI.</i>	77
Apéndice B <i>Consentimiento informado empleado para la inclusión de los pacientes en el estudio</i>	79
Apéndice C <i>Puntos de corte clínicos (CCVs) y epidemiológicos (ECVs) para la clasificación de los perfiles de susceptibilidad en <i>Candida</i> spp</i>	84

Glosario

Ampliamente resistente (XDR): Cepas no susceptibles a ≥ 1 antifúngicos de ≥ 3 clases.

Concentración Inhibitoria Mínima (CIM): Hace referencia a la menor concentración de un fármaco antimicrobiano que causa una reducción visible del crecimiento de un microorganismo en un medio (agar o caldo) cuando se compara con un control de crecimiento, durante una prueba de susceptibilidad *in vitro*.

Efecto *trailing*: Crecimiento residual que muestra una levadura a concentraciones por encima de la concentración inhibitoria mínima (CIM)

Fungicida: Término que hace referencia a la actividad de un fármaco y su capacidad de causar la muerte a microorganismos del reino Fungi por medio de sus mecanismos de acción.

Fungistático: Término que hace referencia a la actividad de un fármaco y su capacidad de inhibir el crecimiento y el desarrollo de los microorganismos, o la germinación de sus esporas mediante sus mecanismos de acción.

Intermedio (I): Una categoría definida por los CCVs, que incluye a los aislamientos con valores de CIM dentro del rango intermedio que se acercan a los niveles sanguíneos y tisulares normalmente alcanzados y para los cuales la respuesta puede ser menor que la de los aislados sensibles.

Multirresistente (MDR): Cepas no susceptibles a ≥ 1 antifúngicos de ≥ 2 clases.

no- *Wild Type* (NWT): Es una categoría interpretativa definida por los ECVs, que describe a las cepas con posibles mecanismos de resistencia adquirida o susceptibilidad disminuida frente a un fármaco antifúngico en las pruebas *in vitro*.

Puntos de corte clínicos (CCVs): Concentración inhibitoria mínima (CIM) utilizada para categorizar un microorganismo como sensible, sensible dependiente de dosis, intermedio, o resistente frente a un antifúngico particular.

Puntos de corte epidemiológicos (ECVs): Concentración inhibitoria mínima (CIM) utilizada para categorizar un microorganismo como silvestre (WT) o no silvestre (NWT). Estos puntos de corte definen el límite superior de la susceptibilidad de las cepas silvestres.

Resistente (R): Una categoría definida por los CCVs, que implica que los aislamientos con un valor de CIM igual o superior al punto de corte no son inhibidos por las concentraciones normalmente alcanzadas de un fármaco en los tejidos. También indica la presencia de mecanismos de resistencia y la baja probabilidad de eficacia terapéutica basada en estudios científicos.

Sensible (S): Una categoría definida por los CCVs, que implica que los aislamientos con una concentración inhibitoria mínima igual o menor al punto de corte, serán inhibidos por la concentración alcanzable de un antifúngico cuando la dosis recomendada o habitual es utilizada en el sitio de la infección, resultando en un probable éxito terapéutico.

Sensible dependiente de dosis (SDD): Una categoría definida por los CCVs, que implica que la sensibilidad de un aislamiento depende del régimen que es utilizado en el paciente. Es decir, para alcanzar la eficacia clínica con estos aislamientos hay que utilizar dosis más altas, mayor frecuencia, o ambas; a diferencia de las cepas categorizadas como sensibles (Solo aplica frente a antifúngicos con evidencia científica suficiente que respalda que el uso de concentraciones mayores o más frecuentes, aumentan la probabilidad de éxito terapéutico).

Tolerancia antifúngica: Crecimiento que muestra una levadura frente a altas concentraciones de un fármaco antifúngico en las pruebas de susceptibilidad *in vitro*

Wild type (WT): Es una categoría interpretativa definida por los ECVs, que describe a las cepas sin mecanismos de resistencia adquiridos o susceptibilidad disminuida frente a un fármaco antifúngico en las pruebas *in vitro*.

Resumen

Título: Distribución de los perfiles de susceptibilidad antifúngica de especies de *Candida* aisladas de pacientes adultos en Unidad de Cuidados Intensivos y sus factores asociados^{1*}

Autor: Edimerk Mauricio Gil Güiza^{2*3*}

Palabras Clave: *Candida*, levaduras, micosis, farmacorresistencia microbiana, Unidades de cuidados intensivos, Colombia.

Introducción: En los últimos años, el aumento en la administración de antifúngicos como terapia y profilaxis frente a las micosis causadas por *Candida* spp. ha contribuido con el desarrollo de resistencia en diferentes especies. Esto ha complicado la implementación de estrategias de manejo, generando la prolongación de la estancia hospitalaria y un mal pronóstico en pacientes críticos. **Objetivo:** Determinar los perfiles de susceptibilidad antifúngica de especies de *Candida* aisladas de pacientes adultos de UCI del Hospital Universitario de Santander y sus factores asociados. **Metodología:** Se realizó la evaluación de la susceptibilidad antifúngica de cepas colonizantes de *Candida* aisladas de pacientes en UCI, mediante la técnica de microdilución en caldo, siguiendo los lineamientos del CLSI, empleando nueve antifúngicos utilizados en el tratamiento de la candidiasis. Adicionalmente, se realizó la determinación de las variables clínicas y sociodemográficas de los pacientes asociadas con resistencia. **Resultados:** Se estudiaron 181 aislamientos provenientes de muestras de 98 pacientes de UCI. Entre los cuales, el 18/98 (18,3%) tuvo colonización por aislados resistentes. El fluconazol resultó ser el antifúngico en el que se observó mayor resistencia (8,8%), siendo *C. parapsilosis* la especie con mayor proporción de aislados resistentes 8/39 (20,5%). Adicionalmente, se encontró asociación entre la colonización mixta (por diferentes especies de *Candida*) y la resistencia antifúngica en los aislados de la población de estudio. **Conclusiones:** Se evidenció la presencia de aislados de *Candida* resistentes a antifúngicos de uso frecuente en el tratamiento de la candidiasis, y se determinó que la colonización por más de una especie de *Candida* representa un mayor riesgo de encontrar cepas resistentes en los pacientes de UCI, hallazgos que establecen la importancia de hacer vigilancia en pacientes críticos.

^{1*} Trabajo de Grado

^{2**} Facultad de Salud. Escuela de Microbiología. Maestría en Microbiología. Directora: Clara Inés Sánchez Suárez. PhD. en Microbiología y Genética Molecular. Codirectora: Laura Viviana Herrera Sandoval. MSc. en Ciencias Básicas Biomédicas.

Abstract

Title: Distribution of antifungal susceptibility profiles of *Candida* species isolated from adult patients in the Intensive Care Unit and their associated factors^{4*}

Author: Edimerk Mauricio Gil Güiza⁵

Keywords: *Candida*, yeasts, mycoses, microbial drug resistance, intensive care units, Colombia.

Introduction: In recent years, the increase in the administration of antifungals as therapy and prophylaxis against mycoses caused by *Candida* spp. has contributed to the development of resistance in different species. This has complicated the implementation of management strategies, leading to prolonged hospital stay and poor prognosis in critically ill patients. **Objective:** To determine the antifungal susceptibility profiles of *Candida* species isolated from adults admitted to ICU at the University Hospital of Santander and their associated factors. **Methodology:** Antifungal susceptibility assessment of *Candida* isolates from ICU patients was performed using the broth microdilution technique using nine antifungals commonly used in the treatment of candidiasis. Additionally, clinical and sociodemographic variables of patients associated with resistance were determined. **Results:** 181 isolates from 98 ICU patients were analyzed. Among them, 18/98 (18.3%) were colonized by resistant isolates. Fluconazole was the antifungal agent with the highest resistance (8.8%), with *C. parapsilosis* being the species with the highest proportion of resistant isolates 8/39 (20.5%). Additionally, an association was found between mixed colonization (by different *Candida* species) and antifungal resistance in the isolates from the study population. **Conclusions:** The presence of *Candida* isolates resistant to antifungals commonly used in the treatment of candidiasis was evidenced; and it was determined that colonization by more than one species of *Candida* represents a higher risk of finding resistant strains in ICU patients. These findings highlight the importance of monitoring critical patients.

^{4*} Degree Work

⁵Faculty of Health. School of Microbiology. Master's in microbiology. Director: Clara Inés Sánchez Suárez. Ph.D. in Microbiology and Molecular Genetics. Co-director: Laura Viviana Herrera Sandoval. MSc. in Basic Biomedical Sciences.

Introducción

Las enfermedades fúngicas invasivas causadas por especies del género *Candida*, son un problema creciente de salud pública en los hospitales. La candidiasis invasiva (CI) es una de las más frecuentes en pacientes de unidad de cuidados intensivos (UCI), reportes globales consolidan una mortalidad de hasta 40% (Bongomin et al., 2017). El panorama continental refiere que, en Estados Unidos, las candidemias representan la cuarta causa más común de infecciones del torrente sanguíneo en UCI, con una tasa de incidencia de aproximadamente 9 casos por cada 100.000 habitantes al año (Pfaller & Diekema, 2007). Mientras que, en Latinoamérica, la incidencia es mayor, alcanzando 10 a 20 casos por cada 100.000 habitantes, especialmente en regiones con limitaciones diagnósticas y terapéuticas (Nucci et al., 2017). En Colombia, estudios recientes reportan incidencia estimada entre 2 y 6 casos por cada 1.000 pacientes hospitalizados en UCI (Moreno-García et al., 2020), con tasas de mortalidad alarmantes en pacientes críticos que varían entre 40 a 60% (Serrano et al., 2017).

La incidencia de estas micosis se encuentra asociada con la colonización de especies de *Candida* en la piel y mucosas de los pacientes hospitalizados. Así mismo, el desarrollo de estas infecciones se favorece por alteraciones intrínsecas del sistema inmune, el uso de dispositivos invasivos y procesos quirúrgicos que facilitan el paso de estas levaduras a otros tejidos. (Bilal, 2023) (Duque CM, 2020). Por otra parte, las altas tasas de mortalidad han sido asociadas con cambios en la distribución de especies de *Candida* que forman parte de la microbiota (colonizantes), complicaciones como la sepsis, el retraso en el tratamiento antifúngico (Serrano et al., 2017), así como la falla terapéutica y las limitadas opciones de tratamientos en la

actualidad frente a las infecciones fúngicas invasivas (Serrano et al., 2017) (Parra-Giraldo, 2018).

El género *Candida* incluye varias especies, siendo *Candida albicans* la que históricamente se ha asociado con patogenicidad en seres humanos. Sin embargo, a nivel global se ha observado un aumento en la prevalencia de especies no-*albicans*, como *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, y *Candida krusei*, que presentan patrones de susceptibilidad antifúngica variables y, en algunos casos, resistencia intrínseca o adquirida a los tratamientos disponibles (Miceli, Díaz & Lee, 2011). En América Latina, las especies no-*albicans*, como *Candida parapsilosis* y *Candida tropicalis*, representan hasta 40% de los aislamientos de *Candida* en pacientes de UCI (Góis et al., 2018).

Este cambio en la epidemiología de especies de *Candida*, junto con la mayor frecuencia de cepas resistentes enmarca la importancia de realizar estudios epidemiológicos locales para comprender mejor los perfiles de susceptibilidad antifúngica y sus factores clínicos asociados (Parra-Giraldo, 2018, Pappas et al., 2018). En concordancia con lo anterior, el desarrollo de resistencia en *Candida* spp. se encuentra ligado principalmente a la presencia de mecanismos moleculares intrínsecos, o adquiridos producto de una exposición prolongada (McCort & Tsai, 2023). La presión selectiva ejercida por los tratamientos empíricos con antifúngicos inadecuados y el uso de esquemas profilácticos en pacientes hospitalizados (Cortés, 2020).

Desde otra perspectiva, la búsqueda de blancos terapéuticos alternos y el desarrollo de nuevas moléculas antifúngicas para uso clínico es aún incipiente (Houšť et al., 2020). Actualmente, el manejo de la candidiasis en pacientes críticos se limita al uso de cuatro clases de antifúngicos de uso sistémico: polienos, pirimidinas, azoles y equinocandinas. La elección del antifúngico a utilizar está condicionada por el estado clínico del paciente, el sitio de la infección

y la especie de *Candida* implicada, lo que reduce aún más las opciones terapéuticas (Segales Camacho, 2024).

En términos de resistencia antifúngica la situación global requiere especial atención. Las tasas de resistencia a los azoles, como el fluconazol, han alcanzado niveles preocupantes, especialmente en *Candida glabrata*, con resistencias reportadas hasta de 15% de los aislamientos clínicos (Castanheira et al, 2016, Pfaller & Diekema, 2018). También, se documenta una resistencia emergente a las equinocandinas, que son actualmente la terapia de elección en infecciones invasivas por *Candida*, lo que limita aún más las opciones terapéuticas y el pronóstico de los pacientes en estado crítico (Orozco et al., 2019).

El panorama en Colombia es similar, especies no-*albicans* de *Candida*, como *Candida glabrata* y *Candida krusei*, han demostrado resistencia intrínseca o adquirida a los antifúngicos de primera línea, particularmente los azoles como el fluconazol. Reportes previos han documentado una prevalencia de resistencia frente a estos antifúngicos de hasta el 25%, 15% y 13% en especies como *C. parapsilosis*, *C. glabrata* y *C. albicans*, respectivamente. (Cruz-Torres et al., 2022; Ceballos-Garzón et al., 2023). Por otra parte, algunos estudios han documentado la prevalencia de aislamientos clínicos de *C. auris* resistentes a fluconazol y anfotericina B en diferentes territorios del país (Escandón et al., 2022; Ceballos-Garzón et al., 2019).

En la práctica clínica existen metodologías comerciales para la evaluación del perfil de susceptibilidad en levaduras, con el fin de orientar los tratamientos y disminuir la falla terapéutica asociada a los esquemas empíricos. Actualmente se cuenta con las metodologías estandarizadas por parte de comités internacionales como el CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) y el EUCAST (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility

Testing) para estudios de vigilancia y epidemiología de especies resistentes los cuales son aún escasos, así como la evaluación de nuevas moléculas con potencial antifúngico (Berkow et al., 2020).

En el contexto de los pacientes de UCI, además de las especies de *Candida* colonizantes, se han reportado factores que pueden influir en la respuesta al tratamiento antifúngico. Entre ellos, se hace referencia a factores sociodemográficos como la edad avanzada, comorbilidades subyacentes y el tiempo de hospitalización. Por otra parte, el uso de antibióticos, la duración de la hospitalización y la presencia de dispositivos invasivos, han sido factores clínicos asociados (Pappas et al., 2018). Bajo esta mirada, se requieren estudios integrales que además, de determinar los perfiles de susceptibilidad antifúngica de especies de *Candida* en pacientes hospitalizados en UCI, identifiquen los factores clínicos y sociodemográficos asociados con la resistencia; lo cual podría contribuir al desarrollo de estrategias preventivas frente a la CI en este entorno clínico, así como a la toma de decisiones terapéuticas basadas en la optimización de las opciones, la mejora clínica y por ende la reducción de la mortalidad (Pfaller & Diekema, 2018).

En países en desarrollo como Colombia, las limitaciones del sistema de salud pueden retrasar el diagnóstico y tratamiento adecuado de infecciones fúngicas invasivas como la IC, por tanto, realizar este tipo de estudios es relevante. A nivel local, se desconoce la resistencia de especies colonizantes de *Candida* en un ámbito crítico hospitalario, por tanto, el objetivo del presente estudio fue evaluar la susceptibilidad antifúngica de cepas colonizantes de *Candida* de pacientes ingresados a la UCI del Hospital Universitario de Santander (HUS), estableciendo qué factores clínicos o sociodemográficos se encontraban asociados con la presencia de cepas resistentes. Por lo cual, los datos epidemiológicos y los posibles modelos de asociación que se

obtuvieron serán cruciales para determinar la prevalencia de resistencia frente a antifúngicos de uso frecuente en el servicio de UCI, contribuyendo al mediano plazo al desarrollo de estrategias preventivas y terapéuticas más efectivas, adaptadas a las características de la población en estudio.

1. Marco conceptual y estado del arte

1.1 Generalidades de *Candida* spp.

Las especies pertenecientes al género *Candida* son hongos levaduriformes que se caracterizan por su plasticidad fenotípica y diversidad metabólica, factores que les confieren ventajas adaptativas frente a otros microorganismos. Estas especies tienen la capacidad de colonizar diferentes sitios anatómicos y pueden establecer dos tipos de relaciones ecológicas con otros organismos. Una de tipo comensal, formando parte de la microbiota normal de mamíferos a nivel de piel, mucosa oral, digestiva y genital; y otra de tipo patógeno, cuando participan en procesos de infección a nivel superficial o sistémico (Wickes BL, 2018). *Candida albicans* es la especie implicada en la mitad de los casos de candidiasis. Sin embargo, la incidencia de otras especies de *Candida* no- *albicans* (NACS) como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Nakaseomyces glabratus* (*C. glabrata*), *C. auris*, *C. dubliniensis*, *Pichia kudriavzevii* (*C. krusei*) y *C. guilliermondii*, está en aumento (Mba, 2022).

1.2 Candidiasis en pacientes de UCI

Actualmente las micosis constituyen la cuarta causa más frecuente de infecciones desarrolladas en pacientes hospitalizados, dentro de las cuales las infecciones causadas por *Candida* spp. representan hasta el 80% de los casos (Álava et al., 2020). La candidiasis posee un

espectro clínico amplio que va desde las infecciones mucocutáneas superficiales localizadas, hasta las formas invasivas de alto riesgo para pacientes críticos. La candidemia es la forma de candidiasis invasiva más frecuente en pacientes de UCI y ocurre cuando las levaduras alcanzan el torrente sanguíneo, desde donde pueden diseminarse a cualquier otro órgano o sistema. Estudios realizados en Latinoamérica han reportado incidencias de candidemia en Colombia de hasta 1,96 casos por cada 1000 admisiones hospitalarias, siendo mayores que las reportadas en otros países de la región (Cortés, 2020). Adicionalmente, esta micosis se encuentra asociada con una tasa de mortalidad que oscila entre el 30-60%, de acuerdo con el estado inmunológico del paciente, la especie de *Candida* implicada, el suministro de terapia antifúngica oportuna, entre otros factores (Cortés, 2021).

La mayoría de los casos de candidiasis en pacientes de UCI provienen de la colonización endógena. Sin embargo, la colonización exógena, asociada con la atención en salud y dispositivos médicos como catéteres venosos centrales (CVC), dispositivos cardiovasculares y catéteres urinarios, también es frecuente (Rodríguez, 2019). Actualmente, debido a la falta de pruebas de diagnóstico rápido, gran parte de los casos de candidiasis aún se confirman mediante cultivos de rutina, los cuales cuentan con baja sensibilidad. Esto, sumado a la difícil identificación de especies crípticas de *Candida*, conlleva la administración de terapias antifúngicas tardías, lo que contribuye a la aparición de resistencia en las levaduras y falla terapéutica en los pacientes (Bhattacharya et al., 2020).

1.2.1 Antifúngicos para el tratamiento de la Candidiasis

1.2.1.1 Azoles. Son la clase de antifúngicos más comúnmente utilizados como tratamiento y profilaxis frente a infecciones causadas por *Candida* spp. Estos compuestos son de uso sistémico e incluyen el fluconazol, voriconazol, itraconazol, posaconazol e isavuconazol.

Estos fármacos actúan inhibiendo la enzima Lanosterol 14 α -desmetilasa (14DM), la cual es una enzima del citocromo p450 codificada por el gen *ERG11*. Esta enzima participa en la biosíntesis del ergosterol, componente fundamental de la membrana celular fúngica. Cuando sucede esta inhibición, otras enzimas presentes (Erg6p, Erg25p, Erg26p, Erg27p, and Erg3p) causan la acumulación de compuestos intermediarios tóxicos, que perturban la estabilidad de la membrana e impiden el crecimiento del hongo. Una de las limitaciones que presentan estos antifúngicos es su acción fungistática frente a hongos como *Candida* spp. Estos fármacos generan una fuerte presión selectiva que favorece el desarrollo de resistencia durante tratamientos prolongados. La susceptibilidad frente a los azoles varía de acuerdo con la especie de *Candida*, siendo efectivos para la mayoría de las cepas de *C. albicans*, pero de uso limitado frente a especies como *C. glabrata* y *C. auris* debido al incremento de cepas resistentes (Lee, 2021).

1.2.1.2 Polienos. Representan la clase de antifúngico más antigua utilizada para tratar las micosis sistémicas. La anfotericina B es el más utilizado y presenta un espectro amplio de acción contra hongos de importancia clínica, incluyendo las especies de *Candida*. Estos fármacos actúan uniéndose al ergosterol, formando complejos en la membrana fúngica. Esto genera poros que llevan a la pérdida de iones monovalentes (K⁺, Na⁺, H⁺ y Cl⁻) causando la muerte celular. A pesar de la excelente actividad fungicida, su uso clínico es limitado debido a su baja biodisponibilidad por administración oral y a sus efectos tóxicos (dosis dependientes) en los pacientes, debido a la similitud entre su blanco farmacológico (ergosterol) y el colesterol en las membranas celulares animales (Lee, 2021).

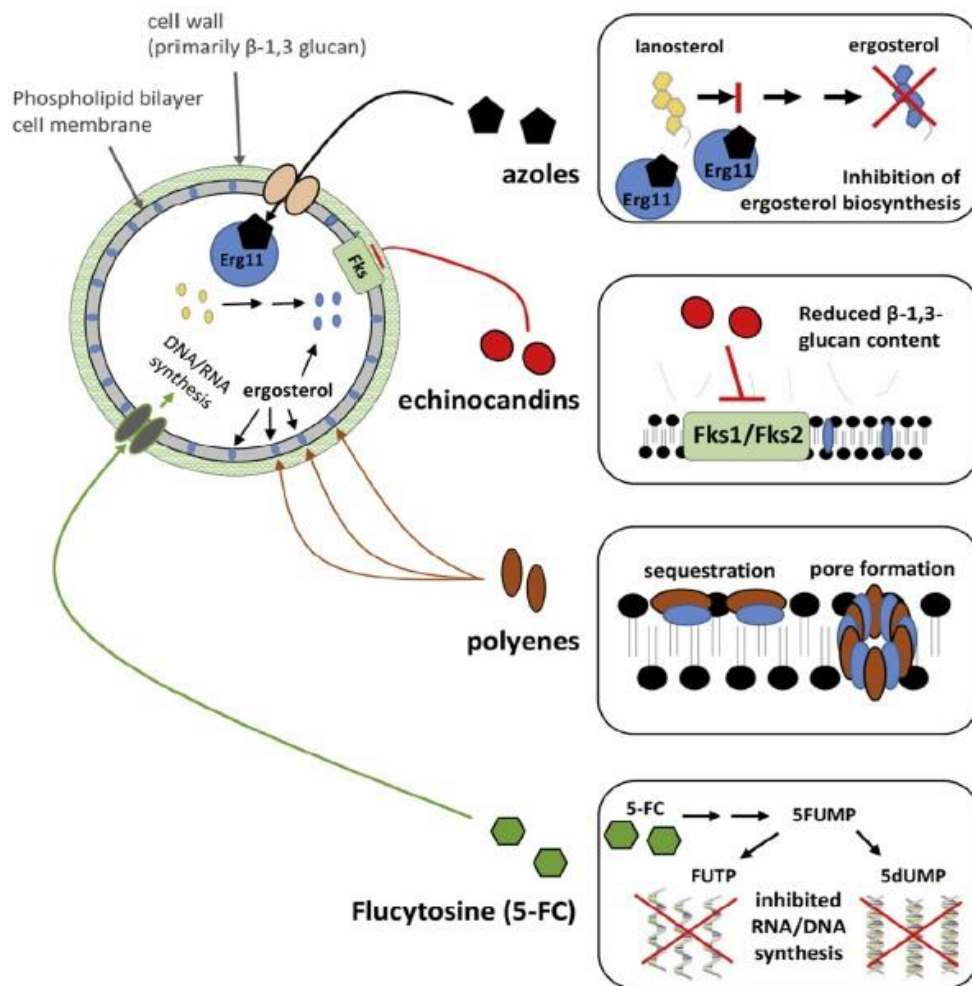
1.2.1.3 Equinocandinas. Son la única nueva clase de antifúngicos implementados en la práctica clínica en décadas. Dentro de este grupo se encuentran la micafungina, anidulafungina, caspofungina y rezafungina. Estos fármacos actúan uniéndose de manera no competitiva a la

subunidad catalítica de la enzima (1,3)- β -D-glucano sintasa, codificada por los genes *FKS1* y *FKS2* en *Candida* spp. Esta unión inhibe la síntesis del (1,3)- β -D-glucano, componente principal de la pared celular fúngica, causando la pérdida de la integridad de esta estructura y la muerte celular. Estos fármacos se emplean como primera línea en el tratamiento de pacientes con candidiasis invasiva, gracias a su baja interacción con otros medicamentos y su potente acción fungicida frente a las especies de *Candida*. Sin embargo, presentan actividad limitada frente a otros patógenos fúngicos como *Cryptococcus* spp. y algunos hongos filamentosos, debido a la ausencia o escasa presencia de (1,3)- β -D-glucano en su pared celular (Lee, 2021).

1.2.1.4 Derivados de pirimidinas. Fueron diseñados en el año 1950 y son uno de los antifúngicos de uso clínico más antiguos. La flucitosina (5FC) es uno de los más importantes dentro de este grupo. Estos fármacos presentan actividad fungistática contra las especies de *Candida*, debido a que interfieren en la biosíntesis de los ácidos nucleicos. La 5FC actúa ingresando al citoplasma celular por acción de la enzima citosina permeasa (Fcy2). Una vez dentro, la 5FC es transformada en 5- Fluorouracil (5FU) por la acción de la citosina deaminasa (Fcy1). Finalmente, el 5FU es metabolizado en 5- Fluorouridina trifosfato (5FUTP) por acción de la enzima uracilo fosforribosiltransferasa (Fur1), la cuál es incorporada en el ARN en lugar de la uridina trifosfato (UTP), afectando la traducción a proteínas. Por otra parte, el 5FU también puede ser transformado en 5- fluorodesoxiuridina monofosfato (5FdUMP), el cual inhibe la timidilato sintasa, una importante enzima en la biosíntesis de ADN. La 5 flucitosina (5FC) suele administrarse en combinación con otros antifúngicos como la anfotericina B, con el fin de aumentar su efectividad durante el tratamiento y evitar la aparición de resistencia (Bhattacharya et al., 2020).

Figura 1

Mecanismos de acción de las diferentes clases de antifúngicos.



Nota. Resumen de los mecanismos de acción moleculares de las cuatro familias de antifúngicos utilizados en pacientes con candidiasis: Azoles, equinocandinas, polienos y derivados de pirimidinas. Tomado de Morio et al., 2017.

1.3 Resistencia antifúngica en *Candida* spp.

La resistencia antifúngica desde el punto de vista microbiológico se define como la capacidad que tiene un hongo de crecer a una concentración de un fármaco que es igual o mayor a la concentración que detiene el crecimiento/elimina a la mayoría de los aislamientos de la misma especie. La resistencia antifúngica en *Candida* spp. se presenta cuando la interacción fármaco-molécula blanco se ve afectada directa o indirectamente por diferentes mecanismos, incluidas mutaciones o sobreexpresión de los genes que codifican a los sitios blanco, actividad de bombas de eflujo en la membrana, formación de biopelículas, entre otros (Lee et al., 2023; Firacative et al., 2023).

La aparición o adquisición de resistencia es principalmente un mecanismo adaptativo frente a la presión selectiva ejercida por los fármacos. Esta resistencia puede clasificarse en tres tipos. La resistencia primaria, es aquella que se desarrolla en microorganismos que nunca han estado expuestos al fármaco en cuestión. La resistencia secundaria o adquirida, la cual aparece cuando un microorganismo, inicialmente sensible, se vuelve resistente tras la exposición a un tratamiento antifúngico. Por último, la resistencia “natural” o intrínseca es aquella que se observa en especies donde la mayoría de los aislamientos resultan resistentes a un mismo fármaco, como es el ejemplo de *P. kudriavzevii* frente al fluconazol (Czajka, 2023).

1.3.1 Resistencia frente a los azoles

El aumento en la frecuencia de resistencia se ha asociado con el uso incorrecto o excesivo de fármacos y la administración de terapias profilácticas innecesarias que generan presión selectiva. Actualmente, diferentes especies de *Candida* han demostrado presentar intrínsecamente valores de CIM más altos frente a algunos de los antifúngicos pertenecientes al grupo de los azoles, entre estas las especies de *Candida* no *-albicans* (Fuentefria et al., 2018).

Estos organismos presentan diferentes mecanismos intrínsecos y adquiridos que les permiten desarrollar resistencia frente a estos fármacos. (Bhattacharya et al., 2020). Entre los más comunes se encuentran:

1.3.1.1 Alteración de la enzima Lanosterol 14 α -desmetilasa. Un mecanismo de resistencia común frente a los azoles, es la aparición de cambios en los aminoácidos que conforman su molécula blanco, lo cual conlleva a una disminución en la afinidad de estos fármacos por la enzima Lanosterol 14 α -desmetilasa. La enzima está codificada por un gen altamente polimórfico (*ERG11*) y se han descrito más de 160 sustituciones de aminoácidos producto de mutaciones (inserciones y deleciones) en este gen. A pesar de la cantidad de cambios conformacionales en esta enzima, solo unas pocas sustituciones se encuentran relacionadas con fenotipos resistentes en *Candida* spp. La mayoría de estas sustituciones se dan en puntos clave de esta enzima (*Hot spots*), específicamente entre los aminoácidos 105-165, 266-287 y 405-488. Estos cambios estructurales ocurren principalmente alrededor del canal de acceso y del sitio activo de la enzima, afectando la entrada y la unión con el fármaco (Czajka, 2023).

1.3.1.2 Sobreexpresión del blanco farmacológico. Este mecanismo está mediado por la sobreexpresión del gen *ERG11* en especies resistentes a los azoles, el cual genera un aumento en la producción de la enzima blanco de estos fármacos. Este incremento hace necesaria una mayor concentración del antifúngico para causar una inhibición, disminuyendo la susceptibilidad en estas levaduras. En *C. albicans* este mecanismo está mediado por mutaciones de ganancia de función (GOF) en el gen *UPC2*, el cual actúa como promotor de la expresión constitutiva de los genes involucrados en la biosíntesis de ergosterol, como *ERG11* (Lee, 2021).

1.3.1.3 Activación de bombas de eflujo. La disminución de la concentración intracelular del fármaco mediante la activación de bombas de eflujo es uno de los mecanismos de resistencia más importantes en *Candida* spp. y suele presentarse en aislamientos clínicos de pacientes con terapia antifúngica prolongada. Existen dos clases de transportadores transmembranales implicados en este mecanismo. Los primeros son la superfamilia de los casetes de unión a ATP (ABC). Estos transportadores poseen dos dominios transmembrana y dos dominios citoplasmáticos de unión a nucleótidos (NBDs). Los NBDs impulsan el movimiento de sustratos a través de la membrana mediante la hidrólisis de ATP. La segunda clase de bombas de eflujo son la superfamilia de los facilitadores principales (MF). Estas proteínas también se ubican a través de la membrana, pero utilizan el gradiente de protones generado en la membrana para su funcionamiento (Lee, 2021). Diferentes transportadores que confieren resistencia a los azoles han sido descritos, dentro de estos se incluyen: Los transportadores Cdr1 y Cdr2 (ABC) y Mdr1 (MF) en *C. albicans*, *abc1* en *C. krusei* y *CgCdr1*, *CgCdr2* y *CgSnq2* en *C. glabrata*. Sin embargo, estas bombas de eflujo no actúan igual frente a todos los azoles. El Mdr1 ha mostrado ser más específico para el transporte y eliminación de fluconazol. Debido a esto, la sobreexpresión de este transportador no se encuentra asociada con resistencia cruzada. Por el contrario, cepas con sobreexpresión de Cdr1 y Cdr2 (ABC) pueden mostrar altos valores de CIM frente a diferentes azoles de manera simultánea (voriconazol, itraconazol, posaconazol, isavuconazol) (Fuentefria, 2018). La sobreexpresión de estas bombas de eflujo en la membrana celular fúngica se encuentra mediada por mutaciones en genes como el *TAC1* y *MRR1* que codifican para los factores de transcripción de los transportadores ABC y MF respectivamente (Morio, 2017).

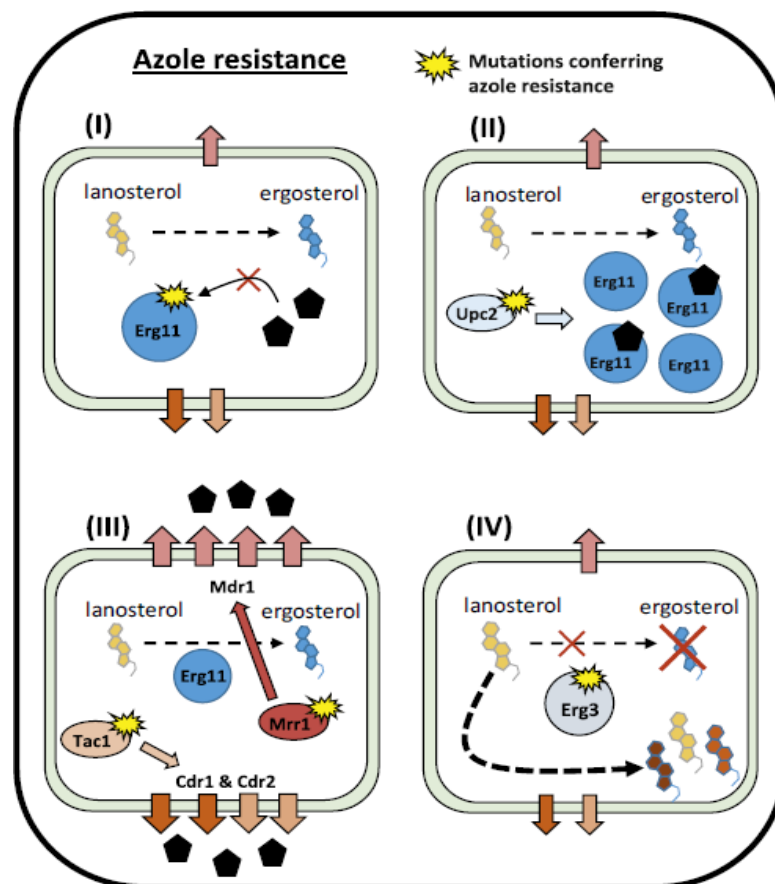
1.3.1.4 Alteración de la biosíntesis de ergosterol. Además del gen *ERG11*, otros genes que participan en la biosíntesis de ergosterol se han visto involucrados en la resistencia frente a los azoles. Uno de ellos es el gen *ERG3* que codifica para la C5 esterol desaturasa. Mutaciones en este gen impiden el paso de 14a-metil-fecosterol a 14a-metil-3,6-diol, generando la disminución del contenido de ergosterol en la membrana fúngica. El desvío de esta ruta metabólica genera la acumulación de precursores que pueden sustituir al ergosterol y permiten la estabilidad de la membrana aún en presencia del fármaco, contribuyendo al desarrollo de resistencia en *Candida* spp. Adicionalmente, las mutaciones en *ERG3* también se han visto asociadas con altas CIMs frente a polienos como la anfotericina B, debido al agotamiento del ergosterol, blanco farmacológico de estos antifúngicos (Fuentefria, 2018).

1.3.1.5 Plasticidad genómica. Es una característica de los hongos del género *Candida* que les permite adaptarse a diferentes condiciones ambientales como cambios en la temperatura, el estrés oxidativo y la exposición a antifúngicos. Los cambios genómicos relacionados incluyen las aneuploidías, pérdida de la heterocigosidad (LOH) y reordenamientos cromosómicos que afectan la expresión de los blancos farmacológicos, las bombas de eflujo y otros factores que contribuyen a la resistencia. Las alteraciones les confieren diversidad genotípica y fenotípica, sin la necesidad de desarrollar mutaciones permanentes en su genoma. La aneuploidía más frecuente en la resistencia a los azoles consiste en la formación de un isocromosoma por duplicación del brazo izquierdo del cromosoma 5 (i(5L)). Esta alteración conlleva a un aumento en el número de copias de los genes localizados en esa región (*ERG11* y *TAC1*) (Lee, 2021). Este mecanismo que ha sido ampliamente estudiado en cepas de *C. albicans* y *C. auris*, y se encuentra estrechamente relacionado con la tolerancia y el crecimiento residual (fenómeno de *trailing*) que presentan estas levaduras frente a los fármacos fungistáticos en las pruebas *in vitro* (Bing et al.,

2020). Adicionalmente, se ha reportado la aparición de otras aneuploidías asociadas con los cromosomas 3 y 6, portadores de los genes relacionados con la expresión de bombas de eflujo (*MRR1*, *CDR1* y *MDR1*) en cepas de *C. albicans* expuestas frente a triazoles de uso clínico como el posaconazol (kukurudz, 2022).

Figura 2

Mecanismos de resistencia frente a los azoles



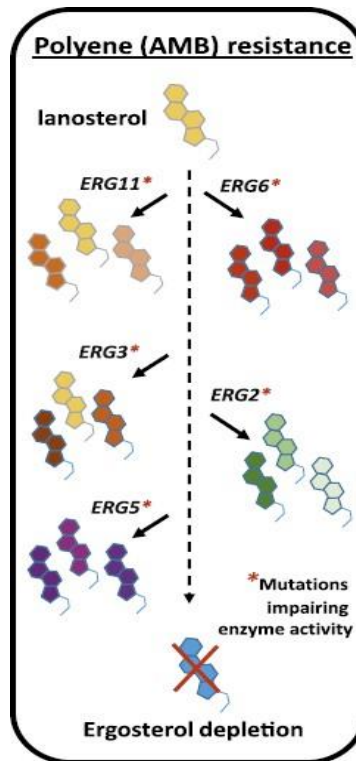
Nota. La resistencia frente a los azoles está mediada por cuatro mecanismos principales. **(I)** Cambios estructurales en Erg11 disminuyen la afinidad del fármaco por esta molécula blanco. **(II)** La regulación positiva en la expresión del blanco farmacológico se da por alteraciones en los

promotores transcripcionales (mutaciones GOF en *UPC2*) o copias adicionales del gen *ERG11* (plasticidad del genoma). **(III)** Regulación positiva de las bombas de eflujo inducida por mutaciones de GOF en *MRR1*, *TAC1* o copias adicionales del gen *TAC1* (plasticidad del genoma). **(IV)** Cambios en la biosíntesis del ergosterol que conducen a la formación de esteroides alternativos independientes de Erg11. Tomado de Morio et al., 2017.

En Colombia, fármacos como el fluconazol son ampliamente utilizados para el manejo de infecciones fúngicas y tratamientos profilácticos en pacientes críticos, lo que ha generado un incremento en el número de aislamientos resistentes de especies como *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* (Ceballos-Garzon et al., 2020) (Daneshnia, 2024). Debido a esto, en el país se han realizado estudios relevantes donde se ha documentado la prevalencia de cepas sensibles, sensibles dependientes de dosis y resistentes frente a azoles y otras clases de antifúngicos. Una investigación reciente realizada por Hernández-Pabón y colaboradores reportó una mayor frecuencia de cepas resistentes frente a azoles como el fluconazol (*C. parapsilosis* 13,8%, *C. tropicalis* 11,8%, *C. glabrata* 5,5%) y el voriconazol (*C. tropicalis* 5,9%) en comparación con otros antifúngicos (de acuerdo con los puntos de corte del CLSI). Estas cepas fueron aisladas de pacientes con candidemia y otras infecciones invasivas reportadas en el laboratorio clínico y servicio transfusional del Hospital Universitario Mayor Méderi en Bogotá (Hernández-Pabón, 2024). Estos porcentajes son relevantes, teniendo en cuenta que el fluconazol es la principal alternativa en el tratamiento de infecciones causadas por especies del complejo *C. parapsilosis*, debido a los altos valores de CIM que presentan estas especies frente a otros antifúngicos como las equinocandinas (Czajka, 2023).

1.3.2 Resistencia frente a los polienos

Los polienos se caracterizan por presentar una actividad fungicida fuerte frente a las especies de *Candida*. Por esto, la aparición de cepas resistentes es poco frecuente. Sin embargo, cuando ocurre está mediada por alteraciones en las enzimas implicadas en la biosíntesis del ergosterol, agotando su concentración en la membrana. En *C. albicans* y *C. glabrata* la resistencia frente a los polienos se ha visto relacionada con mutaciones en los genes *ERG2*, *ERG3*, *ERG5*, *ERG6* y *ERG11*. A excepción de *ERG6*, todas estas mutaciones se asocian con resistencia cruzada frente a los azoles (Jensen, 2015). Adicionalmente, las cepas de *C. auris* suelen presentar mayores tasas de resistencia que otras especies relacionadas y se ha reportado la sobreexpresión de genes como *ERG1*, *ERG2*, *ERG6* y *ERG13* en cepas con altos valores de CIM frente a anfotericina B (Muñoz, 2018). Sin embargo, para los polienos no se han descrito mecanismos de resistencia mediados por bombas de eflujo, esto puede estar relacionado con la poca afinidad que presentan estas moléculas con los canales transportadores presentes en la membrana (Lee, 2021).

Figura 3***Mutaciones asociadas con la resistencia frente a los polienos***

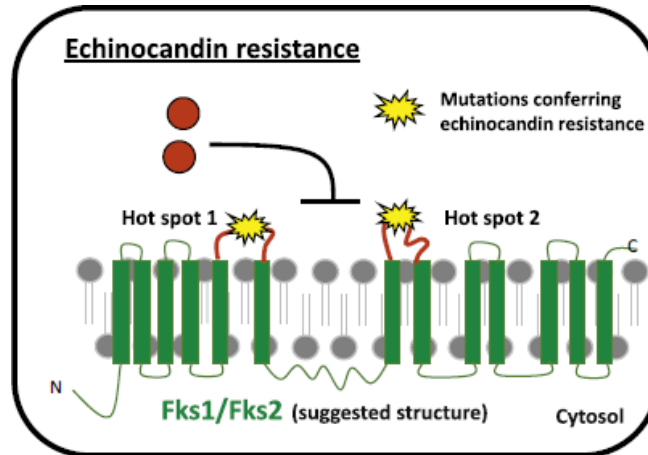
Nota. La resistencia frente a los polienos es causada por alteraciones en la biosíntesis del ergosterol (mutaciones en *ERG2*, *ERG3*, *ERG5*, *ERG6* y *ERG11*), lo que conduce a la acumulación de esteroides alternativos a expensas del ergosterol. Tomado de Morio et al., 2017.

1.3.3 Resistencia frente a las equinocandinas

El uso de las equinocandinas en el tratamiento de la candidiasis ha ido en aumento en los últimos años gracias a la efectividad que presentan estos fármacos. Sin embargo, esto ha favorecido el desarrollo de resistencia en diferentes especies de *Candida*. Los mecanismos de resistencia frente a estas moléculas se basan principalmente en mutaciones de los genes *FKS*, los cuales codifican para la subunidad catalítica de la enzima (1,3)- β -D-glucano sintasa. En la mayoría de las especies de *Candida*, los altos valores de CIM y la resistencia cruzada frente a las

diferentes equinocandinas se encuentran relacionados con mutaciones en el gen *FKSI* las cuales generan cambios en los aminoácidos 641–649 (*hot spot 1*) y 1357–1364 (*hot spot 2*) de la enzima. En *C. albicans* el cambio de serina en la posición 645 (S645) es la sustitución más frecuentemente encontrada en cepas con fenotipos resistentes. A diferencia de otras especies, en *C. glabrata* la resistencia frente a estos fármacos está asociada con mutaciones en dos genes (*FKSI* y *FKS2*) y la sustitución más frecuente es la de serina en la posición 663 (S663), mutación asociada al gen *FKS2* (Lee, 2021).

Existen especies que son intrínsecamente menos susceptibles a las equinocandinas como es el caso del complejo *Candida parapsilosis* (*C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*) y *Candida guilliermondii*. Las especies de complejo *C. parapsilosis* poseen una mutación asociada con un cambio de prolina en la posición 649 (Pro649); mientras *C. guilliermondii* posee un cambio de metionina en la posición 633 (Met633) y de alanina en 634 (Ala634). Estos polimorfismos intrínsecos se asocian con altos valores de CIM en las pruebas de susceptibilidad *in vitro*, sin embargo, no están necesariamente relacionados con falla terapéutica a nivel clínico (Perlin, 2017).

Figura 4***Mecanismo de resistencia frente a las equinocandinas.***

Nota. La resistencia frente a las equinocandinas está asociada casi exclusivamente con variaciones o mutaciones dentro de regiones conservadas (*Hot spots*) de la proteína codificada por los genes *FKS*. Tomado de Morio et al., 2017.

A pesar de que la resistencia frente a las equinocandinas suele ser menos frecuente en comparación con otros fármacos como los azoles, la baja susceptibilidad frente a estos antifúngicos complica los esquemas de manejo en pacientes críticos, ya que son estos fármacos los indicados frente a candidemias y otras infecciones invasivas en pacientes que no responden a tratamientos con azoles. En países como Estados Unidos, el incremento de la resistencia frente a estas moléculas se ha visto asociado con terapias antifúngicas prolongadas en pacientes con episodios de candidemias recurrentes (Pristov, 2019). Además, algunos estudios han reportado que *C. glabrata* es una de las especies con mayores porcentajes de resistencia frente a estos antifúngicos, en comparación con otras levaduras de importancia clínica (Martínez-Herrera, 2021).

En Colombia, un estudio multicéntrico realizado en la ciudad de medellín reportó un alto porcentaje de resistencia frente a caspofungina en especies como *C. glabrata* (20%) recuperadas de muestras de hemocultivos de 15 hospitales (Berrio et al., 2018). Otro estudio reciente realizado en la ciudad de Bogotá también reportó resistencia frente a caspofungina en el 5.5% de los aislamientos de *C. glabrata*, siendo esta la única especie del estudio con resistencia frente a estas moléculas (Hernández-Pabón, 2024). A pesar de esto, son pocos los datos que se conocen sobre la resistencia *in vitro* frente a las equinocandinas en aislamientos de *Candida* spp. Por lo que se requiere de análisis adicionales que permitan comprender el panorama de la resistencia frente a esta clase de fármacos en el territorio nacional.

1.3.4 Resistencia frente a las pirimidinas

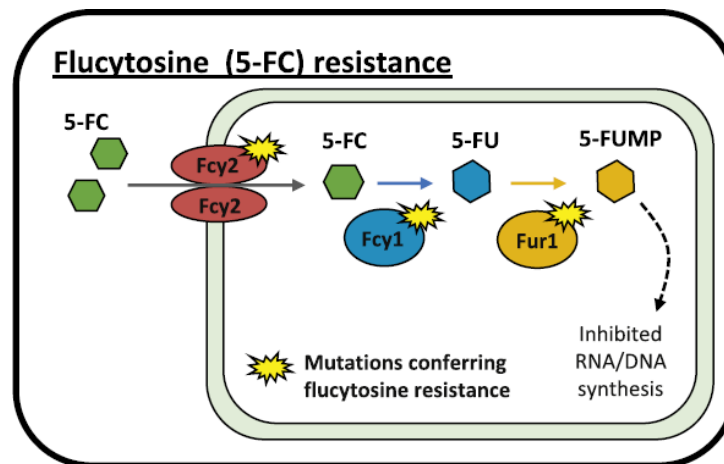
La resistencia frente a los análogos de pirimidinas como la flucitosina, se encuentra asociada con el uso de estos fármacos en monoterapia y ha sido reportada en especies como *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. lusitaniae*. En estas levaduras la resistencia está mediada por mutaciones en los genes *FCY1*, *FCY2* Y *FUR1*, los cuales codifican para enzimas encargadas de la absorción de los antifúngicos hacia el interior de la célula (*Fcy2*) y de su metabolismo (*Fcy1* y *Fur1*). Por otra parte, el incremento en la producción de pirimidinas por parte de la célula fúngica, también se ha visto implicado con la pérdida de susceptibilidad en estas levaduras (Czajka, 2023). Para disminuir la tasa de resistencia adquirida presentada frente a estos fármacos, a nivel clínico se ha optado por usar flucitosina en combinación con otros antifúngicos.

Debido a esto, algunos estudios se han enfocado en evaluar la eficacia *in vitro* de la flucitosina en conjunto con diferentes fármacos, encontrando resultados favorables (sinergia total/parcial) para la combinación de flucitosina + anfotericina B y flucitosina + anidulafungina frente a especies de difícil manejo como *C. auris*. (John, 2023). Actualmente el CLSI no posee

puntos de corte clínicos ni epidemiológicos para clasificar la susceptibilidad de las especies de *Candida* spp. frente a la flucitosina. Debido a esto, son pocos los estudios que incluyen la evaluación *in vitro* de este fármaco. Sin embargo, en Colombia se han realizado estudios donde se han reportado valores de CIM de hasta 64 $\mu\text{g/ml}$ frente a estas moléculas en aislamientos de *C. tropicalis* involucrados en procesos de infección (Hernández-Pabón, 2024). Esto resalta la baja susceptibilidad que pueden llegar a presentar las especies de *Candida* y la importancia de monitorizar la eficacia de este antifúngico, ya que es aún utilizado en algunas regiones como terapia combinada para el tratamiento de micosis invasivas (Sigera, 2023).

Figura 5

Mecanismo molecular de resistencia frente a la flucitosina.



Nota. La resistencia frente a la flucitosina está mediada por la alteración/inhibición de la función de las enzimas Fcy1, Fcy2 y Fur1, implicadas en la internalización del antifúngico y de su transformación hasta su forma activa (5-FUMP). Tomado de Morio et al., 2017.

1.4 Pruebas de susceptibilidad en levaduras

Actualmente se han desarrollado diferentes metodologías para evaluar la susceptibilidad *in vitro* en levaduras de importancia clínicas. Estas pruebas permiten evaluar la actividad antifúngica que tienen determinados fármacos frente a estos microorganismos, mediante la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM).

Dentro de las diferentes pruebas disponibles, el método de microdilución en caldo establecido por el CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*), es considerado el estándar *in vitro* para la determinación de la susceptibilidad en levaduras del género *Candida*. Esta es una técnica basada en la evaluación del crecimiento microbiano frente a diferentes concentraciones de un antifúngico. Los resultados de estos ensayos son utilizados en entornos clínicos para guiar la administración de terapia farmacológica frente a diferentes especies de *Candida*, para monitorizar el desarrollo de resistencia mediante estudios de vigilancia epidemiológica; y en ensayos preclínicos para la determinación del espectro de actividad y la potencia *in vitro* de nuevas moléculas antifúngicas (Wiederhold, 2023).

Con el fin de clasificar a los aislados de acuerdo con su CIM, el CLSI ha definido dos tipos de puntos de corte. Los Puntos de corte clínicos (CCVs), que sirven para categorizar a los aislados como sensibles (S), sensibles dependientes de dosis (SDD)/ Intermedio (I) o resistentes (R). Estos puntos de corte son especie-específicos y tienen en cuenta evidencia científica que correlaciona la respuesta clínica con diferentes valores de CIM y parámetros farmacodinámicos/farmacocinéticos del antifúngico; permitiendo orientar la toma de decisiones

a nivel clínico frente a la efectividad de un fármaco en un tratamiento *in vivo* (Wiederhold, 2021).

Por otra parte, los puntos de corte epidemiológicos (ECVs) se basan en la distribución de la CIM para separar poblaciones salvajes (*Wild Type*) de las poblaciones no salvajes (no-*Wild Type*), es decir, que han adquirido mutaciones o mecanismos de resistencia. A diferencia de los CCVs, estos puntos de corte no permiten estimar la efectividad de un tratamiento antifúngico sobre una levadura a nivel *in vivo*, por lo tanto, no son útiles en escenarios clínicos (Berkow et al., 2020).

Actualmente, la técnica de microdilución en caldo (CLSI) se realiza bajo los lineamientos establecidos en los manuales M27 Cuarta edición, M27M44S tercera edición y M57S tercera edición. En estos documentos se dictan los lineamientos técnicos y alcances de la prueba, se especifican los controles de calidad a utilizar y se establecen los puntos de corte clínicos (CCVs) y epidemiológicos (ECVs) para diferentes especies de *Candida* de importancia clínica frente a fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol, rezafungina, anidulafungina, micafungina, caspofungina y anfotericina B.

2. Objetivos

2.1 Objetivo general

Determinar la distribución de los perfiles de susceptibilidad antifúngica de las especies de *Candida* aisladas de pacientes adultos en Unidad de Cuidados Intensivos y sus factores clínicos y sociodemográficos asociados.

2.2 Objetivos específicos

- Caracterizar a los pacientes de Unidad de Cuidados Intensivos de acuerdo con sus variables clínicas y sociodemográficas
- Evaluar los perfiles de susceptibilidad antifúngica de los aislamientos clínicos de *Candida* spp.
- Establecer la prevalencia de los perfiles de susceptibilidad antifúngica y su posible asociación con las características de la población de estudio durante su estancia en UCI

3. Metodología

3.1 Diseño y generalidades del estudio

Se llevó a cabo un estudio transversal en el cual se incluyeron aislamientos clínicos provenientes de muestras de colonización de pacientes adultos que ingresaron a la UCI del Hospital Universitario de Santander entre el 1 de septiembre del 2023 y el 30 de abril del 2024. Las muestras recolectadas corresponden a hisopados de piel de zona inguinal, axilar y frotis faríngeos (empleando el medio de transporte Amies); muestras de orina recolectadas por diferentes métodos (micción espontánea/catéter) y aspirados traqueales. Estos aislamientos fueron proporcionados por el proyecto macro titulado “Desarrollo de una estrategia de medicina personalizada para el manejo preventivo, diagnóstico y tratamiento de candidiasis en Unidades de Cuidados Intensivos de adultos en el área metropolitana de Bucaramanga”. Las muestras de los pacientes fueron recolectadas a las 48 horas de ingreso a la UCI posterior a la firma del consentimiento informado correspondiente (Apéndice A); y llevadas al laboratorio de micología de la escuela de Microbiología de la UIS para su procesamiento. Los cultivos con crecimiento de levaduras fueron enviados posteriormente al laboratorio 404 del Edificio de Investigaciones sede Guatiguará (LI-404) para la realización de pruebas de identificación y susceptibilidad a los antifúngicos. El transporte de los cultivos se realizó de acuerdo con lo consignado en el manual “*Guidance on regulations for the transport of infectious substances 2021-2022*”.

3.2 Caracterización clínica y sociodemográfica de los pacientes

Se realizó un análisis de la información clínica y sociodemográfica de los pacientes de UCI de donde provenían los aislamientos clínicos de *Candida* spp. Estos datos (previamente anonimizados) fueron proporcionados por el proyecto macro y consignados en una Tabla de recolección de datos previamente diseñada para su posterior análisis. A partir, de la información de las historias clínicas, se recolectaron datos sociodemográficos de los pacientes respecto al sexo, edad, lugar de procedencia; así como datos clínicos sobre el uso de medicamentos, uso de dispositivos médicos, comorbilidades, tiempo de estancia hospitalaria, hallazgos de laboratorio, entre otros. Esta información fue dispuesta en un formato de recolección diseñado para tal fin (Apéndice B). Los datos sobre la colonización por *Candida* spp. (Número de muestras colonizadas, tipo de colonización y especies identificadas) también fueron registrados.

3.3 Recuperación de los aislamientos de *Candida* spp.

Los aislamientos incluidos en este estudio fueron previamente identificados a nivel de especie empleando la técnica de MALDI-TOF, tomando como válidos los resultados de identificación con un *score* ≥ 2 . Para la realización de las pruebas de susceptibilidad, los aislamientos criopreservados con glicerol al 30% a -20 °C, fueron reconstituidos en medio Sabouraud dextrosa 2% durante 48 horas. A partir de este pase, se realizaron los repiques para la preparación de los inóculos correspondientes al montaje de pruebas de microdilución.

3.4 Evaluación de la susceptibilidad antifúngica

Para la evaluación de la susceptibilidad frente a los antifúngicos se empleó la técnica de microdilución en caldo para levaduras, de acuerdo con los lineamientos descritos en el manual de

referencia M27 cuarta edición del CLSI (2017). Se determinó la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) de cada aislamiento frente a los nueve antifúngicos evaluados, partiendo de un cultivo puro de la levadura en medio SDA al 2% con cloranfenicol incubado a 35 ± 2 °C por 24 horas.

3.4.1 Técnica de microdilución en caldo

Para la realización de la técnica se empleó el medio líquido RPMI 1640 con L-glutamina sin bicarbonato de sodio, con glucosa al 0,2%, pH 7,0 y tamponado con ácido morfolino propanosulfónico (MOPS). Los ensayos fueron realizados en microplacas estériles fondo en U. Se emplearon nueve antifúngicos en polvo liofilizados, al $\geq 98\%$ de pureza, de la marca Merck. Estos fueron evaluados en las concentraciones estipuladas en el manual M27 cuarta edición del CLSI: fluconazol y flucitosina (0,12 – 64 $\mu\text{g/ml}$), voriconazol, itraconazol, posaconazol y anfotericina B (0,03-16 $\mu\text{g/ml}$), anidulafungina, micafungina y caspofungina (0,015-8 $\mu\text{g/ml}$).

3.4.1.1 Preparación de las microplacas con antifúngicos. Los antifúngicos en polvo liofilizados fueron reconstituidos con agua destilada para la preparación de las soluciones de stock. Para el caso de los antifúngicos insolubles en agua, se empleó dimetilsulfóxido (DMSO) como solvente. A partir de las soluciones de *stock* se prepararon 10 diluciones seriadas de cada antifúngico empleando el medio líquido RPMI 1640. Estas diluciones se dispusieron en microplacas de 96 pocillos fondo en U, añadiendo 100 μl de cada una, en las columnas 2-11 (de la mayor a la menor concentración). En la columna 1 de la microplaca se dispusieron 200 μl de RPMI 1640 como control de esterilidad del medio y 100 μl de RPMI 1640 en la columna 12 para el control de crecimiento de la levadura. Para el caso de las microplacas de antifúngicos insolubles en agua, el control de crecimiento correspondió a 100 μl de RPMI 1640 con 2% de DMSO. Las microplacas con antifúngico fueron almacenadas a -20°C hasta su uso.

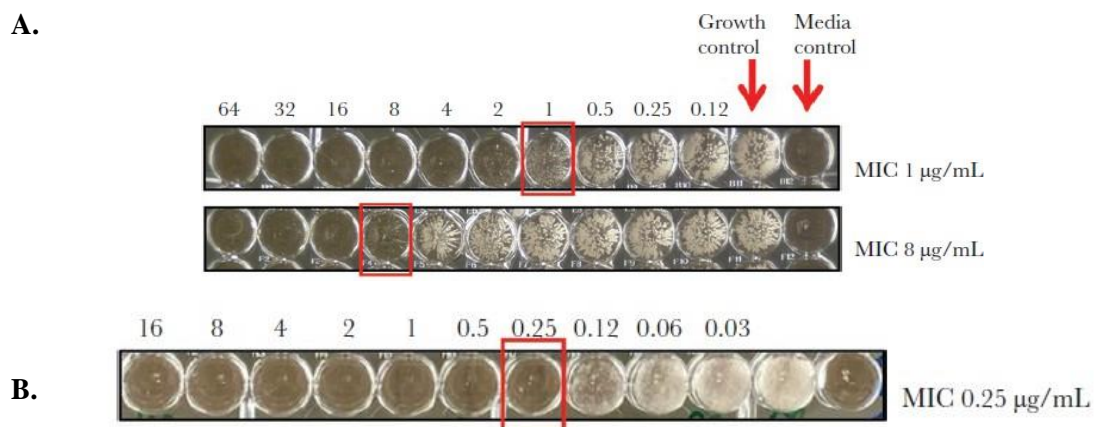
3.4.1.2 Preparación del inóculo y condiciones de incubación. El inóculo se preparó a partir de un cultivo puro de la levadura incubado en medio SDA 2% a 37°C por 24 horas. Las colonias fueron resuspendidas en solución salina hasta alcanzar una densidad óptica de 0,5 Mc Farland (1×10^6 - 5×10^6 UFC/ml). Posteriormente se realizó una dilución 1:1000 con medio RPMI 1640, para alcanzar una concentración aproximada de inóculo de 1×10^3 - 5×10^3 UFC/ml. Esta última dilución fue la que se utilizó para inocular las microplacas con antifúngicos, añadiendo 100 μ l en cada pocillo de las columnas 2-12. La concentración final de levaduras en las microplacas fue de $0,5 \times 10^3$ - $2,5 \times 10^3$, aproximadamente. Una vez inoculadas, las microplacas fueron recubiertas con papel vinipel (para evitar la desecación) y llevadas a incubación por 48 horas a 37°C. Cada antifúngico fue evaluado por duplicado en cada placa y en dos experimentos independientes.

3.4.1.3 Lectura e interpretación de los resultados. La lectura del crecimiento de las levaduras en las microplacas se realizó a las 48 horas de incubación de manera visual. La determinación de la CIM para los azoles se confirmó por densitometría a 600nm (Ceballos-Garzón, 2023). La CIM para los azoles, las equinocandinas y la flucitosina estuvo definida como la concentración de antifúngico del pozo donde se observó una reducción del crecimiento igual o menor al 50% con respecto al pozo control de crecimiento. Por otra parte, la CIM para la anfotericina B correspondió a la concentración de antifúngico del pozo donde se observó una reducción del crecimiento del 90-100% (Figura 6). La clasificación de los perfiles de susceptibilidad de las cepas de *Candida* de acuerdo con sus valores de CIM frente a cada antifúngico, se realizó de acuerdo con los puntos de corte clínicos y epidemiológicos establecidos en los manuales M27M44S (2022) y M57S (2022) del CLSI (Apéndice D). La interpretación de la resistencia de acuerdo con la CIM para *C. auris* se realizó de acuerdo con los

puntos de corte tentativos establecidos por el CDC de Atlanta para esta especie: fluconazol: ≥ 32 $\mu\text{g/ml}$; anfotericina B: ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$; anidulafungina ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$; caspofungina ≥ 2 $\mu\text{g/ml}$ y micafungina ≥ 4 $\mu\text{g/ml}$ (CDC, 2020).

Figura 6

Interpretación visual de la CIM en las placas de microdilución.



Nota. **A.** Interpretación visual de la CIM para azoles, equinocandinas y flucitosina. **B.** Interpretación visual de la CIM para anfotericina B. Tomado de Wiederhold, 2021.

3.4.1.4 Control de calidad. Se realizó el control de calidad evaluando la susceptibilidad de las cepas de referencia *Candida krusei* ATCC 6258 y *Candida parapsilosis* ATCC 22019 en cada microplaca junto con los aislamientos clínicos. Para la validación de los montajes se tuvieron en cuenta los valores de CIM establecidos en el manual M27M44S (2022) para estas cepas de referencia. El control de densidad y pureza del inóculo se realizó sembrando 10 μl del pocillo control de crecimiento en medio CHROMagar *Candida* e incubando por 24 horas a 37 °C. Para el monitoreo de la variación de los resultados, las pruebas se realizaron por duplicado para cada aislamiento clínico, aceptando como válidos los experimentos con diferencias no mayores a una dilución entre los valores de CIM de sus réplicas.

3.5 Análisis estadísticos

Se empleó la prueba de Shapiro Wilk para la evaluación de la normalidad de los datos en el análisis univariado. Las variables cuantitativas fueron presentadas en términos de media/mediana como medida de tendencia central y desviación estándar/intervalo intercuartílico como medida de dispersión. Las variables cualitativas se expresaron en términos de frecuencias absolutas y relativas. Para el análisis bivariado con las características clínicas y sociodemográficas, se empleó la prueba de Chi-cuadrado (χ^2), determinando como variable de salida los pacientes con al menos un aislamiento de *Candida* resistente frente a uno o más de los antifúngicos evaluados. Se definieron diferentes variables independientes de tipo clínico y sociodemográfico en los pacientes como: Edad, sexo, procesos quirúrgicos, uso de catéter, terapia inmunosupresora, tratamiento con fármacos antibióticos y antifúngicos, entre otras. Se consideró como significativo un valor $p < 0,05$ para todas las pruebas. Adicionalmente, se realizó un análisis multivariado en el que se incluyeron las variables con un valor $p < 0,2$ empleando la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow, con el fin de identificar las variables asociadas al riesgo de encontrar cepas resistentes en los pacientes de UCI. Los análisis estadísticos se realizaron empleando el software Stata 14.0.

4. Aspectos éticos

El presente proyecto se enmarca en la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud, por la cual se establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud. Esta investigación se encuentra vinculada a un macroproyecto que contó con aprobación del comité de ética de la UIS (CEINCI) y del Hospital Universitario de

Santander (HUS) para la realización de sus actividades. Para el cumplimiento de los objetivos del presente proyecto no se tuvo contacto directo con pacientes, sin embargo, sí se incluyeron aislamientos colonizantes de *Candida* provenientes de diversas muestras de seres humanos que se encontraban en unidades de Cuidados intensivos del HUS en el periodo de estudio y se utilizaron dos fuentes de información secundaria. Estas corresponden a las cepas colonizantes de *Candida* aisladas de las diversas muestras de los pacientes de UCI y a la información de los datos clínicos de estos pacientes proporcionada por el proyecto macro.

Clasificación del riesgo de la investigación: Teniendo en cuenta la Resolución 008430 de 1993 del Ministerio de Salud de la república de Colombia, Título 4, referente a la bioseguridad de las investigaciones y artículos que hacen referencia a la investigación con microorganismos patógenos o material biológico que pueda contenerlos, se clasificó la presente investigación como de riesgo mínimo y se contemplaron las siguientes especificaciones:

Instalaciones: el procesamiento de las muestras para el trabajo de investigación se desarrolló en el laboratorio 404 ubicado en el parque tecnológico Guatiguará de la UIS. El cual cuenta con las normas técnicas para el trabajo en el laboratorio de Microbiología y con la capacidad para el manejo de microorganismos del grupo de riesgo I y II.

Pólizas de riesgo y manejo de residuos: Las personas vinculadas al proyecto tuvieron la ARL vigente durante el desarrollo de la investigación y cumplieron con las normas de riesgos profesionales. Se contempló durante la ejecución del proyecto la generación de residuos químicos y biológicos, los cuales se procesaron según los procedimientos indicados en el Programa de Gestión Integral de Residuos (PGIR) del Sistema de Gestión Ambiental (SGA) de la UIS.

5. Resultados

5.1 Caracterización de los pacientes en UCI

En el presente estudio se incluyeron 181 aislamientos clínicos de *Candida* spp. recuperados de 98 pacientes ingresados a la UCI del Hospital Universitario de Santander. Estos pacientes fueron adultos, mayores de 18 años, de ambos sexos, que presentaron cultivos positivos para colonización por *Candida* en al menos una de las muestras clínicas evaluadas (orina, hisopado de ingle y de axila, frotis faríngeo y aspirado traqueal). Las características clínicas y sociodemográficas de los pacientes de UCI se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1

Características clínicas y sociodemográficas de los pacientes de UCI

Variables	Número de pacientes (%) N = 98
Edad	
20 a 62 años	48 (49,0)
63 o más años	50 (51,0)
Sexo	
Mujeres	33 (33,7)
Hombres	65 (66,3)
Régimen de seguridad social	
Subsidiado	78 (79,6)
Vinculado/ninguno	1 (1,0)
Contributivo	7 (7,2)
otro	12 (12,2)
Servicio hospitalario de procedencia	

Urgencias	61 (62,2)
Remitido	23 (23,5)
Cuidados intermedios	1 (1,0)
Quirófano	5 (5,1)
Hospitalización	8 (8,2)
Razón de ingreso a UCI	
Posoperatorio	6 (6,12)
Insuficiencia respiratoria	12 (12,2)
Choque	22 (22,5)
Politrauma	13 (13,3)
Crisis hipertensiva	3 (3,0)
Sepsis	7 (7,1)
Hemorragia	6 (6,1)
Falla cardiaca	4 (4,0)
Infección localizada	3 (3,0)
Falla renal	2 (2,0)
otra	20 (20,4)
Tiempo de estancia hospitalaria antes del ingreso a UCI	
0 a 1 día	84 (85,7)
más de 2 días	14 (14,2)
Cirugía reciente	28 (28,6)
Infección bacteriana	28 (28,6)
Sepsis	26 (26,5)
Colonización por <i>Candida</i> spp.	
Multifocal (≥ 2 muestras)	49 (50,0)
Mixta (≥ 2 especies de <i>Candida</i>)	42 (43,0)
Colonización por <i>Candida</i> no- <i>albicans</i>	70 (71,4)
Orina	12 (12,2)
Axila	31 (31,6)
Ingle	49 (50,0)
Faringe	22 (22,4)
Tráquea	30 (30,6)
Tipo de nutrición	
Oral	10 (10,2)
Parenteral	53 (54,1)

Sonda	35 (35,7)
Soporte ventilatorio	68 (69,4)
Uso de dispositivos invasivos	
Catéter venoso central	73 (74,5)
Catéter venoso periférico	23 (23,5)
Intubación traqueal	52 (53,1)
Sonda vesical	84 (85,7)
Traqueostomía	3 (3,1)
Hemodiálisis	8 (8,2)
Comorbilidades	
Cáncer	7 (7,1)
Diabetes	27 (27,6)
Hipertensión arterial	39 (39,8)
Cirrosis hepática	4 (4,1)
VIH	1 (1,0)
Desnutrición	4 (4,1)
Falla renal	19 (19,4)
Obesidad	12 (12,2)
Medicamentos	
Corticoides	21 (21,4)
Antibióticos	73 (74,5)
Antifúngicos	6 (6,1)
Uso de Propofol	5 (5,1)

Nota. Caracterización de los pacientes de UCI de acuerdo con las frecuencias absolutas (n) y relativas (%) que presentaron frente a cada variable.

La mayoría de los pacientes incluidos en el análisis son mujeres (66,3%; n=63) con una edad promedio de 59 años (rango 20 – 98 años). El 79,6 % (n=78) pertenecían al régimen subsidiado de salud y el servicio hospitalario de procedencia más frecuente antes de su hospitalización fue urgencias (62,2%; n=61). La razón de ingreso a UCI más frecuente fue el choque (séptico/cardíaco) (22,5%; n=22), seguido de los politraumatismos (13,3%; n=13) y la

insuficiencia respiratoria (12,2%; n=12). Entre las comorbilidades, se encontró que la hipertensión arterial (39,8%; n=39), la diabetes (27,6%; n=27) y la falla renal (19,4%; n=19) fueron las más frecuentes. En cuanto al uso de dispositivos invasivos, gran parte de los pacientes presentaban sonda vesical (85,7%; n=84), catéter venoso central (74,5%; n=73) y se encontraban con intubación traqueal (53,3%; n=52) al momento de la toma de las muestras. Con respecto al uso de medicamentos, se encontró que un gran porcentaje de los pacientes se encontraba en tratamiento con diferentes antibióticos durante su estancia en UCI (74,5%; n=73), sin embargo, solo un 28,6% (n=28) presentaban infección bacteriana confirmada y un 26,6% (n=26) presentaban sepsis. Adicionalmente, se encontró que el 21,4% (n=21) presentaba administración de corticoides, y solo un 6,1% (n=6) de los pacientes presentaban tratamiento con antifúngicos como fluconazol, clotrimazol o terapia combinada (fluconazol + anfotericina B).

5.3 Prevalencia de los perfiles de susceptibilidad antifúngica

Con base en los valores de CIM, se determinó el perfil de susceptibilidad de 181 aislamientos clínicos de *Candida* spp considerados colonizantes. provenientes de 98 pacientes de UCI. Del total de los aislamientos, el 13,2% (n= 24) resultó resistente frente a al menos un antifúngico. Entre los aislamientos resistentes, el 70,8% (n= 17) fueron recuperados de la piel de zona inguinal y axilar de los pacientes, el 12,5% (n= 3) de la cavidad traqueal, el 12,5% (n= 3) de muestras de orina y el 8,3 (n= 2) recuperados de la faringe.

En términos generales, la mayor resistencia entre el total de aislamientos estudiados se presentó para el fluconazol (8,8%; n= 16), seguido por caspofungina (5 %; n=9). Para el caso de micafungina y anidulafungina no se identificaron aislamientos resistentes Consistentemente, para el fluconazol se evidenció el mayor número de aislados con SSSD/I (14,4%; n= 26), seguido por

voriconazol (5%; n= 9), caspofungina (4,4%; n= 8), anidulafungina (2,2%; n= 4) y micafungina (1,1%; n= 2).

En la Tabla 2, se presentan los perfiles de susceptibilidad antifúngica de los 181 aislamientos colonizantes de *Candida*, evaluadas mediante la CIM y categorizadas de acuerdo con los CCV's del CLSI para diversos antifúngicos. Por otra parte, en la Tabla 3, los resultados también se han categorizado con base en los puntos de corte epidemiológicos del CLSI, y la distribución porcentual de aislados WT versus NWT para distintos antifúngicos. Se presentan los datos de la susceptibilidad antifúngica en términos del rango, CIM50 y CIM90.

5.3.1 Perfil de susceptibilidad frente a los azoles

Entre los 181 aislamientos evaluados se encontró resistencia frente a fluconazol en 16 (8,8%) aislamientos clínicos (entre los que se incluyeron 4 aislamientos de *C. krusei* intrínsecamente resistentes). *Candida albicans*, la especie más prevalente (86 aislamientos), mostró una alta susceptibilidad frente a este antifúngico, con el 96.5% de los aislamientos sensibles. Por otra parte, en *C. tropicalis* se observó resistencia en 2/24 (8,3%) de los aislamientos, mientras *C. parapsilosis* resultó ser la especie con mayor proporción de cepas resistentes (20.5%) y una CIM90 de 32 µg/mL.

Por otra parte, todos los aislamientos de *C. glabrata* fueron sensibles dependientes de dosis (SDD) frente a fluconazol, con una CIM90 de 8,00 µg/mL, mientras *C. krusei* mostró ser intrínsecamente resistente, presentando la CIM 90 más alta para este antifúngico (64,00 µg/mL). La cepa de *C. auris* recuperada en el estudio fue clasificada como sensible, de acuerdo con los puntos de corte tentativos publicados por el CDC de Atlanta (CIM = 4 µg/mL).

Con respecto al voriconazol, los aislamientos de *C. albicans* mostraron una alta susceptibilidad, con el 97,6% de sensibilidad (CIM90 = 0,12µg/mL), seguida por *C. tropicalis*

91,7% (CIM90 = 0,25µg/mL). Por otra parte, el 2,6% de los aislamientos de *C. parapsilosis* resultaron resistentes, mientras que el 12,8% fueron clasificados como intermedios frente a este antifúngico. Las cepas de *C. albicans* y *C. parapsilosis* resistentes frente a voriconazol, fueron simultáneamente resistentes a fluconazol.

Teniendo en cuenta los puntos de corte epidemiológicos, para itraconazol, 98,89 % de los aislamientos mostraron fenotipo WT. Si bien *C. tropicalis* presentó 95,8% de aislamientos WT, un aislamiento (4,2%) mostró perfil NWT. Para posaconazol, 96,1% de las cepas mostraron fenotipo WT. Por otra parte, 12,5% y 4,7% de los aislamientos de *C. tropicalis* y *C. albicans* presentaron un fenotipo no- *Wild type* frente a este antifúngico respectivamente.

5.3.2 Perfil de susceptibilidad frente a las equinocandinas

La micafungina y la anidulafungina fueron las equinocandinas con mayor efectividad *in vitro* frente a todas las especies de *Candida*, con un porcentaje de sensibilidad de 98,8% y 97,2%, respectivamente. En la Tabla 2, se evidencia que todos los aislamientos de *C. albicans* (100%) fueron sensibles a anidulafungina, con una CIM90 de 0,12 µg/mL. Por otra parte, todos los aislamientos de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, y *C. krusei* fueron sensibles frente a micafungina.

Para caspofungina, se evidenció que 9/181 aislamientos recuperados presentaron resistencia (4,9%). Se destaca que la mayoría de las especies aisladas de *C. albicans* (97,6%), *C. parapsilosis* (97,4%), y *C. tropicalis* (95,8%), fueron sensibles frente a este antifúngico. Sin embargo, *C. glabrata* fue la especie con mayor porcentaje de aislamientos resistentes (34,8%), seguida de *C. krusei* (25%). En este estudio no se observaron especies de *Candida* multirresistentes, sin embargo, uno de los aislamientos de *C. parapsilosis* recuperada de zona

axilar que presentó resistencia cruzada entre fluconazol y voriconazol, también fue clasificada como intermedia frente a anidulafungina, micafungina y caspofungina.

5.3.3 Perfil de susceptibilidad frente a polienos y pirimidinas

En este estudio, 179/181 (98,8%) de los aislamientos fueron clasificados como WT frente a la anfotericina B, demostrando la alta efectividad de este antifúngico en la inhibición de las especies de *Candida*. El porcentaje restante correspondió a un aislamiento de *C. parapsilosis* clasificado como NWT, y a un aislamiento de *C. auris*, clasificado como resistente de acuerdo con los puntos de corte tentativos del CDC de Atlanta (CIM = 2µg/ml).

Por otra parte, la flucitosina fue el único de los antifúngicos evaluados sin puntos de corte disponibles para la clasificación de *Candida* spp. Sin embargo, se pudo evidenciar que la mayoría de los aislamientos evaluados presentaron bajos valores de CIM frente a este antifúngico, con un rango de CIM no superior a 1 µg/ml, a excepción de *C. krusei*.

Tabla 2

Perfiles de susceptibilidad antifúngica de *Candida* spp. de acuerdo con los puntos de corte clínicos (CCVs).

Perfiles de susceptibilidad antifúngica (CCV's)							
Antifúngicos	Especies N = 181	S (%)	SDD/I (%)	R (%)	MIC (µg/ml)		
					Rango	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Fluconazol	<i>C. albicans</i> (86)	83 (96,5)	1 (1,2)	2 (2,3)	0,12 - 64	0,25	1,00
	<i>C. parapsilosis</i> (39)	30 (76,9)	1 (2,6)	8 (20,5)	0,12 - 32	2,00	32,00
	<i>C. tropicalis</i> (24)	21 (87,5)	1 (4,2)	2 (8,3)	0,12 - 64	1,00	2,00
	<i>C. glabrata</i> (23)		23 (100)		2,0 - 16	4,00	8,00
	<i>C. krusei</i> (4)			4 (100)	32 - 64	64,00	64,00
	<i>C. orthopsilosis</i> (3)	3 (100)			1,0 - 2,0	1,00	2,00
	<i>C. auris</i> (1)	1 (100)			4,00	4,00	4,00
	<i>C. dubliniensis</i> (1)	*	*	*	0,25	0,25	0,25
Voriconazol	<i>C. albicans</i> (86)	84 (97,6)	1 (1,2)	1 (1,2)	0,03 - 8,0	0,03	0,12
	<i>C. parapsilosis</i> (39)	33 (84,6)	5 (12,8)	1 (2,6)	0,03 - 1,0	0,03	1,00
	<i>C. tropicalis</i> (24)	21 (87,5)	3 (12,5)		0,03 - 0,25	0,06	0,25
	<i>C. glabrata</i> (23)	*	*	*	0,03 - 0,5	0,25	0,50
	<i>C. krusei</i> (4)	4 (100)			0,06 - 0,5	0,25	0,50
	<i>C. orthopsilosis</i> (3)	2 (66,7)	1 (33,3)		0,03 - 0,25	0,06	0,25
	<i>C. auris</i> (1)	*	*	*	0,06	0,06	0,06
	<i>C. dubliniensis</i> (1)	*	*	*	0,03	0,03	0,03
Anidulafungina	<i>C. albicans</i> (86)	86 (100)			0,015 - 0,12	0,015	0,12
	<i>C. parapsilosis</i> (39)	37 (95)	2 (5)		0,5 - 4,0	1,00	2,00
	<i>C. tropicalis</i> (24)	24 (100)			0,015 - 0,12	0,06	0,12
	<i>C. glabrata</i> (23)	21 (91,3)	2 (8,7)		0,015 - 0,25	0,06	0,12
	<i>C. krusei</i> (4)	4 (100)			0,015 - 0,06	0,12	0,12
	<i>C. orthopsilosis</i> (3)	3 (100)			0,03 - 1,0	1,00	1,00
	<i>C. auris</i> (1)	1 (100)			0,02	0,02	0,02
	<i>C. dubliniensis</i> (1)	*	*	*	0,03	0,03	0,03

Perfiles de susceptibilidad antifúngica (CCV's)

Antifúngicos	Especies N = 181	S (%)	SDD/I (%)	R (%)	MIC (µg/ml)		
					Rango	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Micafungina	<i>C. albicans</i> (86)	86(100)			0,015 - 0,12	0,015	0,06
	<i>C. parapsilosis</i> (39)	38 (97,4)	1 (2,6)		0,5 - 4,0	1,00	2,00
	<i>C. tropicalis</i> (24)	24 (100)			0,015 - 0,12	0,06	0,06
	<i>C. glabrata</i> (23)	23 (100)			0,015 - 0,12	0,03	0,06
	<i>C. krusei</i> (4)	4 (100)			0,06 - 0,25	0,12	0,25
	<i>C. orthopsilosis</i> (3)	3 (100)			0,12 - 0,5	0,50	0,50
	<i>C. auris</i> (1)	1 (100)			0,12	0,12	0,12
	<i>C. dubliniensis</i> (1)	*	*	*	0,06	0,06	0,06
Caspofungina	<i>C. albicans</i> (86)	84 (97,6)	2 (2,4)		0,06 - 0,5	0,12	0,25
	<i>C. parapsilosis</i> (39)	38 (97,4)	1 (2,6)		0,5 - 4,0	1,00	2,00
	<i>C. tropicalis</i> (24)	23 (95,8)	1 (4,2)		0,12 - 0,5	0,25	0,25
	<i>C. glabrata</i> (23)	12 (52,2)	3 (13)	8 (34,8)	0,12 - 1,0	0,12	0,50
	<i>C. krusei</i> (4)	2 (50)	1 (25)	1 (25)	0,25 - 1,0	0,25	1,00
	<i>C. orthopsilosis</i> (3)	3 (100)			0,25 - 1,0	0,25	1,00
	<i>C. auris</i> (1)	1 (100)			0,12	0,12	0,12
	<i>C. dubliniensis</i> (1)	*	*	*	0,12	0,12	0,12

Nota. *Sin puntos de corte del CLSI disponibles. S: Sensible; SDD: Sensible dosis dependiente; I: Intermedio; R: resistente.

Tabla 3

Perfiles de susceptibilidad de los aislamientos de *Candida* spp. de acuerdo con los puntos de corte epidemiológicos (ECVs) del CLSI.

Perfiles de susceptibilidad antifúngica (ECV's)						
Antifúngicos	Especies N = 181	WT (%)	NWT (%)	MIC (µg/ml)		
				Rango	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Itraconazol	<i>C. albicans</i> (86)	*	*	0,03 - 8,0	0,03	0,12
	<i>C. parapsilosis</i> (39)	39 (100)		0,03 - 0,5	0,06	0,25
	<i>C. tropicalis</i> (24)	23 (95,8)	1 (4,2)	0,03 - 1,00	0,12	0,12
	<i>C. glabrata</i> (23)	23 (100)		0,12 - 2,0	0,25	1,00
	<i>C. krusei</i> (4)	4 (100)		0,25 - 1,0	0,25	1
	<i>C. orthopsilosis</i> (3)	3 (100)		0,12 - 0,25	0,12	0,25
	<i>C. auris</i> (1)	*	*	0,25	0,25	0,25
	<i>C. dubliniensis</i> (1)	1 (100)		0,03	0,03	0,03
Posaconazol	<i>C. albicans</i> (86)	82 (95,3)	4 (4,7)	0,03 - 0,25	0,03	0,06
	<i>C. parapsilosis</i> (39)	39 (100)		0,03 - 0,25	0,03	0,12
	<i>C. tropicalis</i> (24)	21 (87,5)	3 (12,5)	0,03 - 0,5	0,06	0,50
	<i>C. glabrata</i> (23)	23 (100)		0,06 - 1,0	0,25	0,50
	<i>C. krusei</i> (4)	4 (100)		0,12 - 0,25	0,25	0,25
	<i>C. orthopsilosis</i> (3)	3 (100)		0,03 - 0,12	0,03	0,12
	<i>C. auris</i> (1)	*	*	0,06	0,06	0,06
	<i>C. dubliniensis</i> (1)	1 (100)		0,03	0,03	0,03
Anfotericina B	<i>C. albicans</i> (86)	86 (100)		0,12 - 2,0	0,25	0,5
	<i>C. parapsilosis</i> (39)	38 (97,4)	1 (2,6)	0,12 - 2,0	0,25	1
	<i>C. tropicalis</i> (24)	24 (100)		0,25 - 1,0	0,50	0,50
	<i>C. glabrata</i> (23)	23 (100)		0,12 - 2,0	0,50	2,00
	<i>C. krusei</i> (4)	4 (100)		0,5 - 2,0	0,5	2
	<i>C. orthopsilosis</i> (4)	3 (100)		0,25 - 2,0	0,25	2,00
	<i>C. auris</i> ¹ (1)		1 (100)	2,00	2,00	2,00
	<i>C. dubliniensis</i> (1)	1 (100)		0,25	0,25	0,25

Perfiles de susceptibilidad antifúngica (ECV's)

Antifúngicos	Especies N = 181	WT (%)	NWT (%)	MIC (µg/ml)		
				Rango	MIC ₅₀	MIC ₉₀
Flucitosina	<i>C. albicans</i> (86)	*	*	0,12 - 1,0	0,12	0,5
	<i>C. parapsilosis</i> (39)	*	*	0,12 - 0,25	0,12	0,12
	<i>C. tropicalis</i> (24)	*	*	0,12 - 0,25	0,12	0,25
	<i>C. glabrata</i> (23)	*	*	12 - 1,0	0,12	0,12
	<i>C. krusei</i> (4)	*	*	0,12 - 8,0	0,25	8
	<i>C. orthopsilosis</i> (3)	*	*	0,12	0,12	0,12
	<i>C. auris</i> (1)	*	*	0,25	0,25	0,25
	<i>C. dubliniensis</i> (1)	*	*	0,12	0,12	0,12

Nota. *Sin puntos de corte del CLSI disponibles. WT: fenotipo salvaje (*Wild type*); NWT: fenotipo no salvaje (*non-wild type*). La cepa de *C. auris* NWT frente a anfotericina B se considera resistente de acuerdo con los puntos de corte tentativos del CDC de Atlanta.

5.4 Factores asociados con resistencia antifúngica en *Candida* spp.

De los 98 pacientes incluidos en el estudio, 18 (18,4%) presentaron colonización por uno o más aislamientos resistentes a los antifúngicos evaluados. Con el fin de determinar los posibles factores asociados con esta resistencia, se realizó un análisis bivariado en el que se evaluaron diferentes variables clínicas y sociodemográficas en la población de estudio. Para esto, se dividió a los pacientes en dos grupos de acuerdo con la presencia o ausencia de especies resistentes en sus muestras clínicas (Tabla 4).

Tabla 4.

Análisis bivariado de los factores clínicos y sociodemográficos asociados con resistencia en Candida spp.

Variables	Pacientes con aislamientos sensibles n (%)	Pacientes con aislamientos resistentes n (%)	RP (IC 95%)	p valor
Edad				
20 a 62 años	42 (52,5)	6 (33,3)	1	0,14
Más de 63 años	38 (47,5)	12 (66,7)	1,92 (0,78 - 4,76)	
Sexo				
Mujeres	29 (36,2)	4 (22,2)	1	0,25
Hombres	51 (63,7)	14 (77,8)	1,77 (0,63 - 4,97)	
Tiempo de estancia hospitalaria antes del ingreso a UCI				
0 a 1 día	68 (85,0)	16 (88,9)	1	0,67
2 o más días	12 (15,0)	2 (11,1)	0,75 (0,19 - 2,9)	
Cirugía reciente	25 (31,2)	3 (16,7)	0,5 (0,15 - 1,59)	0,216
Infección bacteriana	23 (28,7)	5 (27,8)	0,96 (0,37 - 2,44)	0,934
Sepsis	22 (27,5)	4 (22,2)	0,79 (0,28 - 2,18)	0,773
Colonización por <i>Candida</i> spp.				
Multifocal (2 o más muestras)	39 (48,75)	10 (55,6)	1,25 (0,53 - 2,90)	0,602
Mixta (2 o más especies)	30 (37,5)	12 (66,7)	2,67 (1,09 - 6,00)	0,024 *
Colonización por <i>Candida</i> no-<i>albicans</i>				
Orina	9 (11,25)	3 (16,7)	1,43 (0,48 - 4,23)	0,690
Axila	38 (47,5)	11 (61,1)	1,5 (0,66 - 3,72)	0,297
Ingle	23 (28,7)	8 (44,4)	1,7 (0,75 - 3,9)	0,196
Faringe	19 (23,7)	3 (16,7)	0,69 (0,22 - 2,16)	0,750
Tráquea	28 (35,0)	3 (16,7)	0,28 (0,06 - 1,15)	0,047 *
Tipo de nutrición				
Oral	7 (8,7)	2 (11,1)	1,4 (0,37 - 5,24)	0,639
Parenteral	43 (53,7)	8 (44,4)	0,91 (0,36 - 2,50)	0,858
Sonda	31 (38,7)	4 (22,2)	0,6 (0,20 - 1,74)	0,397
Soporte ventilatorio	58 (72,5)	10 (55,6)	0,60 (0,25 - 1,46)	0,263
Uso de dispositivos invasivos				
Catéter venoso central	61 (76,2)	12 (66,7)	0,63 (0,26 - 1,45)	0,301

Catéter venoso periférico	18 (22,5)	5 (27,8)	1,2 (0,48 - 3,05)	0,674
Intubación traqueal	44 (55,0)	8 (44,4)	0,70 (0,30 - 1,64)	0,418
Sonda vesical	70 (87,5)	14 (77,8)	0,58 (0,22 - 1,52)	0,287
Traqueostomía	2 (2,5)	1 (5,6)	1,86 (0,35 - 9,7)	0,497
Comorbilidades				
Cáncer	6 (7,5)	1 (5,6)	0,75 (0,11 - 4,87)	1
Diabetes	21 (26,2)	6 (33,3)	1,31 (0,53 - 3,15)	0,543
Hipertensión arterial	34 (42,5)	5 (27,8)	0,58 (0,22 - 1,50)	0,249
Falla renal	16 (20,0)	3 (16,7)	0,83 (0,26 - 2,52)	0,747
Obesidad	11 (13,7)	1 (5,6)	0,41 (0,06 - 2,82)	0,454
Medicamentos				
Corticoides	16 (20,0)	5 (27,8)	1,4 (0,56 - 3,50)	0,467
Antibióticos	61 (76,2)	12 (66,7)	0,68 (0,28 - 1,63)	0,399
Antifúngicos pos ingreso a UCI	5 (6,25)	1 (5,6)	0,97 (0,15 - 6,00)	1,000
Total	n= 80	n= 18		

Nota. *Las variables con un p valor menor a 0,05 se consideraron estadísticamente significativas.

Dentro del análisis bivariado se pudo evidenciar que la colonización mixta (por más de una especie de *Candida*) (RP: 2,67; IC 95%: 1,09 - 6,00; $p = 0,024$), la colonización por especies no *-albicans* (RP: 6,8; IC 95%: 0,95 - 48,69; $p = 0,017$) y la colonización traqueal (RP: 0,28; IC 95%: 0,06 - 1,15; $p = 0,047$) fueron variables que presentaron diferencias significativas entre los grupos comparados ($p < 0,05$). Con el fin de proponer un modelo predictivo de colonización por cepas resistentes, se realizó un análisis de regresión logística con todas las variables que en el análisis bivariado presentaron valores p menores o iguales a 0,2, las cuales fueron: edad, colonización mixta, colonización traqueal, colonización de ingle y colonización por especies no *-albicans*.

De acuerdo con los resultados de este análisis, la presencia de colonización mixta aumenta casi cuatro veces la probabilidad de que los pacientes de la UCI estén colonizados por una o más cepas resistentes (OR=3,76; IC95% 1,24-11,40). Por su parte, la colonización traqueal

constituyó un factor protector, que disminuyó un 80% la probabilidad de encontrar cepas resistentes en esta población (OR=0,20; IC95% 0,04-0,96) de acuerdo con el modelo final propuesto (Tabla 5).

Tabla 5

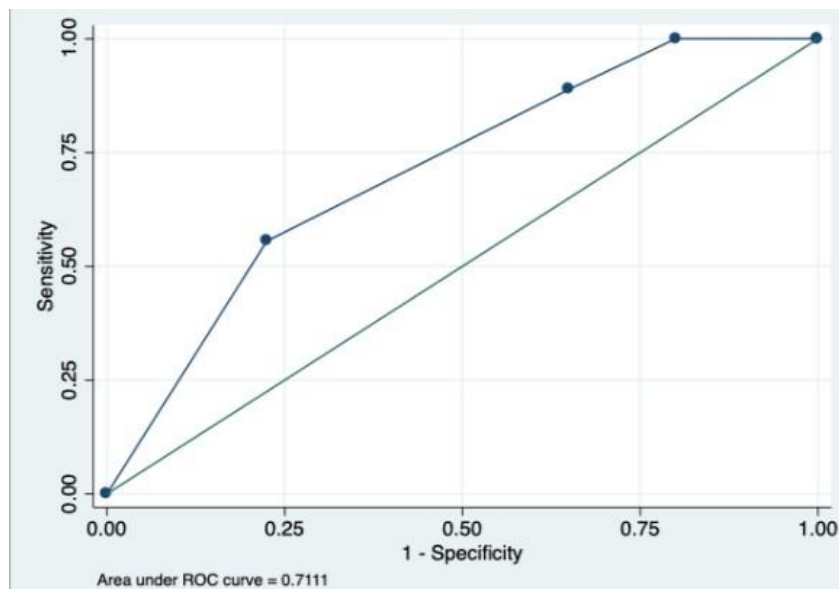
Modelo de regresión logística propuesto

Variable	OR (IC95%)	Valor p
Colonización mixta	3,76(1,24-11,40)	0,02
Colonización traqueal	0,20(0,04-0,96)	0,045

Este modelo fue evaluado con la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow con un valor $p=0,376$, lo que indica que el modelo se ajusta bien a los datos. Así mismo, se realizó un análisis de curva ROC, donde el área bajo la curva fue de 0,711 (Figura 7).

Figura 7.

Curva ROC (receiver operating characteristic curve)



6. Discusión

Las enfermedades fúngicas invasoras representan una amenaza para la salud pública, dado que el aumento de la resistencia a los antifúngicos, proyectándose como una crisis emergente en todo el mundo (Fisher et al., 2022). La candidiasis invasora es la enfermedad infecciosa fúngica con mayor prevalencia en pacientes UCI, alcanzando una mortalidad de hasta el 40% (Pfaller and Diekema, 2005).

Los tratamientos antifúngicos adecuados y oportunos son determinantes para definir el pronóstico de un paciente. Actualmente, existe una oferta limitada de antifúngicos, el tratamiento se basa en gran medida en el uso de cuatro clases de fármacos antimicóticos de acción sistémica, los azoles, los polienos, las equinocandinas y el análogo de la 5- flucitosina. No obstante, en los últimos años ha incrementado el surgimiento de aislados resistentes, naturales o adquiridos, a uno o varios de estos antifúngicos. Por ello, es fundamental realizar vigilancia constante, especialmente en entornos críticos como las unidades de cuidados intensivos, para poder detectar y manejar brotes de resistencia de manera efectiva.

En virtud de lo expuesto, este estudio tuvo como objetivo determinar el perfil de susceptibilidad de los aislamientos colonizantes de *Candida* obtenidos de muestras de pacientes en UCI. Se realizó de acuerdo con los CCV's y ECV's, con el propósito de ofrecer una visión general sobre la resistencia de las cepas en estos entornos clínicos y evaluar la efectividad de diversos antifúngicos frente a las especies de *Candida*.

A partir de los puntos de corte clínicos del CLSI, en esta investigación se evidenció una prevalencia de aislamientos clínicos resistentes de 13,2%. Estas cepas fueron recuperadas de

18/98 pacientes (18,3%), valores superiores a los obtenidos en un estudio realizado en Madrid (España) por Diaz-García y colaboradores, quienes reportaron resistencia en cepas aisladas en 18 de 507 pacientes hospitalizados (3,6%), en su caso los aislamientos fueron recuperados de hemocultivos, muestras intraabdominales y muestras no estériles como piel, mucosas, tracto respiratorio y orina (Diaz-García et al., 2023). En la presente investigación, el 17% de las cepas resistentes fueron recuperadas de la piel, lo que indica la presencia de cepas circulantes resistentes en el ambiente clínico y en la comunidad que pueden ser potenciales focos de transmisión por el personal de salud a otros pacientes, aumentando la alerta de la vigilancia de cepas resistentes.

Por otro lado, los aislamientos con mayor porcentaje de resistencia correspondieron a NACS, entre ellas *C. parapsilosis*, la cual presentó resistencia frente a azoles como el fluconazol (20,5%) y el voriconazol (1,1%); y *C. glabrata*, frente a caspofungina (34,7%). Esto es interesante porque, aunque *Candida albicans* es la especie más comúnmente asociada con infecciones, las especies no-albicans están ganando relevancia debido a su resistencia a los tratamientos. Los resultados del estudio son concordantes con otros realizados en ciudades como Bogotá y Medellín, donde se han reportado porcentajes de resistencia frente a fluconazol de hasta 25% (Ceballos-Garzon et al., 2023; Hernández-Pabón, 2024). Por el contrario, los porcentajes de resistencia encontrados frente a la caspofungina son superiores a los informados en otros estudios de la región (Márquez, 2017). Los resultados de resistencia frente a caspofungina son un tema crítico que podría limitar las opciones de tratamiento y aumentar la morbilidad, dado que estos antifúngicos, en la actualidad son recomendados para su uso como primera línea en el tratamiento de candidiasis invasora (Pfaller et al., 2019).

C. parapsilosis y *C. glabrata* han adquirido relevancia en el ambiente clínico, principalmente por el incremento en el número de casos de candidiasis invasora por NACS en todo el mundo. Adicionalmente, varios autores han documentado que las especies de estos complejos presentan resistencia a los azoles y las equinocandinas, comportamiento relacionado con la capacidad de formación de biofilm, la plasticidad genómica o la presencia de polimorfismo natural en el gen *FKSI* (Hernando-Ortiz et al., 2020; Frias et al., 2021; Pistov et al., 2019).

La existencia de cepas multirresistentes o con resistencia cruzada entre antifúngicos es un desafío para su control en el ambiente hospitalario. En este estudio se documentó un aislamiento de *C. parapsilosis* con resistencia cruzada entre fluconazol y voriconazol, y a su vez resistencia intermedia a las equinocandinas. Según Papp y colaboradores, 2020 este es un fenómeno resultante de la exposición prolongada a los azoles, no solo es la causa de resistencia a estos antifúngicos, sino que facilita el desarrollo de resistencia cruzada. Así mismo, podría alterar la virulencia de *C. parapsilosis* (Papp et al., 2020).

En contraste, la mayoría de los aislamientos de *C. albicans* fueron clasificadas como sensibles frente a todos los antifúngicos evaluados, los resultados concuerdan con lo expuesto por Berkow and Lockard en EEUU, *C. albicans* tiene baja incidencia de resistencia al fluconazol (0,5-2 %) frente a *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. glabrata* que tienen tasas más altas de resistencia a este azol, entre 4 a 9%; 2 al 6% y 11 al 13%, respectivamente (Berkow and Lockard, 2017). El fluconazol es la opción terapéutica primaria para el tratamiento de la mayoría de candidiasis, actúa como fungistático lo que aumenta la probabilidad de generar cepas resistentes en usos no controlados del antifúngico o en tratamientos profilácticos (Berkow and Lockard, 2017)

Con respecto a la anfotericina B, la pérdida de susceptibilidad frente a este fármaco es poco frecuente en aislamientos de *Candida* spp. En este estudio, este antifúngico mostró un espectro de acción *in vitro* WT en la mayoría de los aislamientos colonizantes analizados. Lo que es concordante con estudios realizados en otras ciudades del país (Vides-Peña, 2018; Hernández-Pabón, 2024). No obstante, se presentaron dos cepas de *C. parapsilosis* y *C. auris*, no WT (CLSI) y resistente (CDC), respectivamente. Es por esto, que la anfotericina B continúa siendo uno de los fármacos con mayor actividad fungicida utilizado frente a infecciones micóticas, pero tiene restricciones por los efectos secundarios que provoca su administración.

Por otra parte, el uso de la flucitosina en el ámbito clínico se encuentra restringido a terapias combinadas con otros fármacos como la anfotericina B, debido a la resistencia que se presenta durante el uso prolongado de este antifúngico en monoterapias (John, 2023). Sin embargo, en el presente estudio se pudo evidenciar que la mayoría de los aislamientos presentaron bajos valores de CIM frente a este antifúngico, con un rango de CIM₅₀ no superior a 1 µg/ml, contrario a lo reportado en ciudades como Bogotá, donde se han encontrado valores de CIM mayores a 64 µg/ml en aislados clínicos (Hernández-Pabón, 2024).

La información obtenida en este estudio sobre el perfil de cepas colonizantes de *Candida* resistentes a los antifúngicos en pacientes UCI son de importancia en el contexto colombiano dada la escasa literatura. La mayoría de los estudios nacionales se han enfocado en el perfil de susceptibilidad de cepas aisladas de candidiasis, pero pocos refieren las cepas colonizantes las cuales se evidencia que además de ser potenciales causales de infecciones en estos pacientes críticos pueden ser resistentes a las terapias antifúngicas más comunes.

Con respecto a los factores asociados con la resistencia antifúngica en los pacientes de UCI, se observó que la colonización mixta (por más de una especie de *Candida*), resultó ser un

factor que aumenta el riesgo de encontrar cepas resistentes en esta población. Estos hallazgos son concordantes con lo reportado por Mete y colaboradores en 2021, quienes sugieren que la coexistencia de diferentes especies de *Candida* en la microbiota de los pacientes puede reflejar una adaptación del ecosistema microbiano y puede representar un desafío en escenarios de infección, debido a los diferentes perfiles de susceptibilidad que presentan estas levaduras.

Adicionalmente, en un estudio realizado por Maldonado y colaboradores en 2014 en la ciudad de Medellín, se observó una relación con otras variables clínicas, como el uso de antibióticos y antifúngicos, el tratamiento con corticoides y la coinfección bacteriana, especialmente en pacientes de UCI que presentaban cepas resistentes. Sin embargo, en nuestra población de estudio, no encontramos una asociación con estas características.

Por otra parte, se observó que los pacientes con colonización a nivel de tráquea tenían menor probabilidad de presentar aislados resistentes, lo que puede estar relacionado con el bajo porcentaje de resistencia que se evidenció en las levaduras recuperadas de aspirados traqueales en la población de UCI. Sin embargo, estos hallazgos no son concordantes con lo reportado por Aldardeer y colaboradores en el año 2020, quienes evidenciaron asociación entre la presencia de cepas resistentes y la ventilación por intubación traqueal en pacientes adultos hospitalizados.

Los hallazgos de esta investigación sobre la frecuencia de cepas colonizantes de *Candida* resistentes a antifúngicos en pacientes de la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital Universitario de Santander (HUS) y sus factores asociados representan un avance significativo en el campo de la vigilancia epidemiológica de las infecciones fúngicas en entornos críticos. No obstante, a partir de los datos obtenidos, se sugiere la implementación de análisis con un mayor número de pacientes, los cuales permitan aumentar la significancia estadística de las asociaciones encontradas.

6. Conclusiones

- Se evidenció la presencia de *Candida* spp resistentes a los antifúngicos evaluados (13,2%), en su mayoría provenientes de la piel de axila e ingle (70,8 %), hallazgos que resaltan la importancia de hacer vigilancia, permitiendo el control de posibles brotes asociados con cepas resistentes en la UCI.
- Se estableció *in vitro* el perfil de susceptibilidad de diferentes especies de *Candida* frente a los antifúngicos, se encontró mayor resistencia en especies de *Candida* no *albicans*, entre ellas, *Candida parapsilosis* presentó resistencia a fluconazol (20,5%) y *C. glabrata* a caspofungina (34,8%), resaltando la necesidad de revisar genéticamente sus posibles mecanismos de resistencia.
- Esta investigación logró generar los primeros datos sobre la prevalencia de aislamientos de *Candida* resistentes a los antifúngicos y sus factores asociados en pacientes hospitalizados en la UCI del Hospital Universitario de Santander (HUS).
- Se evidenció que algunos de los antifúngicos utilizados en pacientes UCI como la anidulafungina, la micafungina, el voriconazol, el posaconazol y la anfotericina B; presentan buena actividad fungistática/fungicida *in vitro* frente a la mayoría de las especies de *Candida* aisladas en estos pacientes.
- Se sugiere que la colonización por más de una especie de *Candida* está relacionada con la aparición de cepas resistentes a fármacos antifúngicos en los pacientes de UCI, lo que destaca la importancia de una vigilancia rigurosa sobre la presencia de especies colonizantes, para la prevención de infecciones micóticas y la implementación de

esquemas terapéuticos eficaces en los pacientes de la UCI del Hospital Universitario de Santander.

7. Recomendaciones

Se recomienda la confirmación de la resistencia frente a la anfotericina B mediante la evaluación por el método de E test para el aislamiento de *C. auris*

Confirmar la resistencia frente a la caspofungina en las cepas de *C. glabrata* y *C. krusei* mediante la secuenciación de los genes *FKS1* y *FKS2*

Con el fin de establecer los mecanismos de resistencia moleculares en las diferentes cepas recuperadas, se recomienda la secuenciación de genes como *ERG1*, *ERG2*, *ERG3*, *ERG5*, *ERG6*, *ERG11*, *ERG13*, *UPC2*, *TAC1*, *MRR1*, entre otros asociados con resistencia en *Candida* spp.

Continuar con el cultivo y procesamiento de las muestras de seguimiento en los pacientes durante su estancia en la UCI, con el fin de aumentar el número de pacientes en la muestra de estudio y determinar los cambios asociados a la distribución de especies y la susceptibilidad antifúngica en los aislamientos de *Candida*.

Bibliografía

- Álava, V. V. V., Tenorio, G. E. M., Villota, S. R. M., & Morla, F. A. V. (2020). Infecciones micóticas en UCI. *RECIAMUC*, 4(3), 99-108.
- Aldejohann, A. M., Herz, M., Martin, R., Walther, G., & Kurzai, O. (2021). Emergence of resistant *Candida glabrata* in Germany. *JAC-antimicrobial resistance*, 3(3), dlab122.
- Arendrup, M. C. (2010). Epidemiology of invasive candidiasis. *Current Opinion in Critical Care*, 16(5), 445-452.
- Berkow, E. L., Lockhart, S. R., & Ostrosky-Zeichner, L. (2020). Antifungal susceptibility testing: current approaches. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(3), 10-1128.
- Berkow EL, Lockhart SR. Fluconazole resistance in *Candida* species: a current perspective. *Infect Drug Resist*. 2017 Jul 31;10:237-245. doi: 10.2147/IDR.S118892. PMID: 28814889; PMCID: PMC5546770. Aquí voy
- Berrio, I., Maldonado, N., De Bedout, C., Arango, K., Cano, L. E., Valencia, Y., ... & GERMEN, G. (2018). Comparative study of *Candida* spp. isolates: Identification and echinocandin susceptibility in isolates obtained from blood cultures in 15 hospitals in Medellín, Colombia. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 13, 254-260.
- Bhattacharya, S., Sae-Tia, S., & Fries, B. C. (2020). Candidiasis and mechanisms of antifungal resistance. *Antibiotics*, 9(6), 312.
- Bilal, H., Zhang, D., Shafiq, M., Khan, M. N., Chen, C., Khan, S., ... & Zeng, Y. (2023). Six-year retrospective analysis of epidemiology, risk factors, and antifungal susceptibilities of candidiasis from a tertiary care hospital in South China. *Microbiology Spectrum*, 11(4), e00708-23.

- Bing, J., Hu, T., Zheng, Q., Muñoz, J. F., Cuomo, C. A., & Huang, G. (2020). Experimental evolution identifies adaptive aneuploidy as a mechanism of fluconazole resistance in *Candida auris*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 65(1), 10-1128.
- Bongomin F, Gago S, Oladele RO, Denning DW. Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. *Journal of fungi*. 2017 oct 18;3(4):57.
- Branco, J., Miranda, I. M., & Rodrigues, A. G. (2023). *Candida parapsilosis* virulence and antifungal resistance mechanisms: a comprehensive review of key determinants. *Journal of Fungi*, 9(1), 80.
- Castanheira, M., Deshpande, L. M., Davis, A. P., Carvalhaes, C. G., & Pfaller, M. A. (2022). Azole resistance in *Candida glabrata* clinical isolates from global surveillance is associated with efflux overexpression. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 29, 371-377.
- Castanheira, M., Messer, S. A., Rhomberg, P. R., & Pfaller, M. A. (2016). Antifungal susceptibility patterns of a global collection of fungal isolates: results of the SENTRY Antifungal Surveillance Program (2013). *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 85(2), 200-204.
- CDC (2020). Centers for disease control and prevention. antifungal susceptibility testing and interpretation to laboratorians and health professionals. Available at: <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/c-auris-antifungal.html><https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/>
- Ceballos-Garzon, A., Peñuela, A., Valderrama-Beltran, S., Vargas-Casanova, Y., Ariza, B., & Parra-Giraldo, C. M. (2023). Emergence and circulation of azole-resistant *C. albicans*, C.

- auris and *C. parapsilosis* bloodstream isolates carrying Y132F, K143R or T220L Erg11p substitutions in Colombia. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 13, 1136217.
- Ceballos-Garzon, A., Wintaco-Martínez, L. M., Velez, N., Hernandez-Padilla, C., De la Hoz, A., Valderrama-Beltrán, S. L., ... & Parra-Giraldo, C. M. (2020). Persistence of clonal azole-resistant isolates of *Candida albicans* from a patient with chronic mucocutaneous candidiasis in Colombia. *Journal of Global Infectious Diseases*, 12(1), 16-20.
- Chassot, F., Venturini, T. P., Piasentin, F. B., Santurio, J. M., Svidzinski, T. I. E., & Alves, S. H. (2019). Activity of antifungal agents alone and in combination against echinocandin-susceptible and-resistant *Candida parapsilosis* strains. *Revista Iberoamericana de Micología*, 36(1), 44-47.
- CLSI (2017) *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts*. En: CLSI standard M27, 4th edn. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.
- CLSI (2022) *Epidemiological Cutoff Values for Antifungal Susceptibility Testing*. In: CLSI supplement M57S, 4th edn. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.
- CLSI (2022) *Performance standards for antifungal susceptibility testing of yeasts*. En: CLSI supplement M27M44S, 3rd edn. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.
- Cortés, J. A., Montañez, A. M., Carreño-Gutiérrez, A. M., Reyes, P., Gómez, C. H., Pescador, A., ... & Rosso, F. (2021). Risk factors for mortality in Colombian patients with candidemia. *Journal of Fungi*, 7(6), 442.
- Cortés, J. A., Ruiz, J. F., Melgarejo-Moreno, L. N., & Lemos, E. V. (2020). Candidemia en Colombia. *Biomédica*, 40(1), 195-207.
- Corzo-Leon, D. E., Peacock, M., Rodriguez-Zulueta, P., Salazar-Tamayo, G. J., and MacCallum, D. M. (2021). General hospital outbreak of invasive candidiasis due to azole-resistant

- candida parapsilosis associated with an Erg11 Y132F mutation. *Med. Mycol.* 59, 664–671. doi: 10.1093/MMY/MYAA098
- Cruz-Torres, V., Rodríguez, J., Rivas, J. E., & Vergara, G. (2022). Resistance to azoles and other antifungals in *Candida* species in a tertiary care hospital in Colombia. *Medical Mycology*, 60(4), 529-536.
- Czajka, K. M., Venkataraman, K., Brabant-Kirwan, D., Santi, S. A., Verschoor, C., Appanna, V. D., ... & Tharmalingam, S. (2023). Molecular Mechanisms Associated with Antifungal Resistance in Pathogenic *Candida* Species. *Cells*, 12(22), 2655.
- Daneshnia, F., de Almeida Júnior, J. N., Ilkit, M., Lombardi, L., Perry, A. M., Gao, M., ... & Arastehfar, A. (2023). Worldwide emergence of fluconazole-resistant *Candida* parapsilosis: current framework and future research roadmap. *The Lancet Microbe*.
- Díaz-García, J., Mesquida, A., Gómez, A., Machado, M., Martín-Rabadán, P., Alcalá, L., ... & Guinea, J. (2021). Antifungal susceptibility testing identifies the abdominal cavity as a source of *Candida glabrata*-resistant isolates. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 65(12), 10-1128.
- Duque CM, Sanchez DM, Gaviria A, Acosta AV, Gómez B, Gómez OM, Giraldo AR, Hernandez O. Caracterización de *Candida* spp. aisladas a partir de urocultivos en la ciudad de Medellín. *Infectio*. 2020 jun 10:217-23.
- Escandón, P., Cáceres, D. H., Lizarazo, D., Lockhart, S. R., Lyman, M., & Duarte, C. (2022). Laboratory-based surveillance of *Candida auris* in Colombia, 2016–2020. *Mycoses*, 65(2), 222-225.
- Firacative, C. (2023). Antifungal resistance: a growing concern. *Acta Biológica Colombiana*, 28(3).

- Fisher MC, Alastruey-Izquierdo A, Berman J, Bicanic T, Bignell EM, Bowyer P, Bromley M, Brüggemann R, Garber G, Cornely OA, Gurr SJ, Harrison TS, Kuijper E, Rhodes J, Sheppard DC, Warris A, White PL, Xu J, Zwaan B, Verweij PE. Tackling the emerging threat of antifungal resistance to human health. *Nat Rev Microbiol*. 2022 Sep;20(9):557-571. doi: 10.1038/s41579-022-00720-1. Epub 2022 Mar 29. PMID: 35352028; PMCID: PMC8962932.
- Frías-De-León, M. G., Hernández-Castro, R., Conde-Cuevas, E., García-Coronel, I. H., Vázquez-Aceituno, V. A., Soriano-Ursúa, M. A., ... & Martínez-Herrera, E. (2021). *Candida glabrata* antifungal resistance and virulence factors, a perfect pathogenic combination. *Pharmaceutics*, 13(10), 1529.
- Fuentefria, A. M., Pippi, B., Dalla Lana, D. F., Donato, K. K., & de Andrade, S. F. (2018). Antifungals discovery: an insight into new strategies to combat antifungal resistance. *Letters in applied microbiology*, 66(1), 2-13.
- Góis, J. N., Santos, M. F., Reis, R., & Lobo, R. D. (2018). *Candida glabrata* bloodstream infection: Results from an observational study at a Brazilian tertiary hospital. *BMC Infectious Diseases*, 18(1), 1-8.
- González, Á., & Giraldo, Á. L. R. (2023). Por fin los hongos se toman en serio: La OMS publica por primera vez una lista prioritaria de patógenos fúngicos. *Hechos Microbiológicos*, 14(2).
- Hernández-Pabón, J. C., Tabares, B., Gil, Ó., Lugo-Sánchez, C., Santana, A., Barón, A., & Firacative, C. (2024). *Candida Non-albicans* and *Non-auris* Causing Invasive Candidiasis

- in a Fourth-Level Hospital in Colombia: Epidemiology, Antifungal Susceptibility, and Genetic Diversity. *Journal of Fungi*, 10(5), 326.
- Hernando-Ortiz A, Mateo E, Ortega-Riveros M, De-la-Pinta I, Quindós G, Eraso E. 2020. *Caenorhabditis elegans* as a Model System To Assess *Candida glabrata*, *Candida nivariensis*, and *Candida bracarensis* Virulence and Antifungal Efficacy. *Antimicrob Agents Chemother* 64:10.1128/aac.00824-20. <https://doi.org/10.1128/aac.00824-20>
- Houšť, J., Spížek, J., & Havlíček, V. (2020). Antifungal drugs. *Metabolites*, 10(3), 106.
- Jensen, R. H., Astvad, K. M. T., Silva, L. V., Sanglard, D., Jørgensen, R., Nielsen, K. F., ... & Arendrup, M. C. (2015). Stepwise emergence of azole, echinocandin and amphotericin B multidrug resistance in vivo in *Candida albicans* orchestrated by multiple genetic alterations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70(9), 2551-2555.
- John, L. L., Thomson, D. D., Bicanic, T., Hoenigl, M., Brown, A. J., Harrison, T. S., & Bignell, E. M. (2023). Heightened efficacy of Anidulafungin when used in combination with Manogepix or 5-flucytosine against *Candida auris* In Vitro. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 67(6), e01645-22.
- Kollef, M. H., Zilberberg, M. D., Shorr, A. F., Vo, L., Schein, J., & Micek, S. T. (2011). Epidemiology, microbiology and outcomes of healthcare-associated and community-acquired bacteremia. *American Journal of Infection Control*, 39(5), 401-404.
- Kukurudz, R. J., Chapel, M., Wonitowy, Q., Adamu Bukari, A. R., Sidney, B., Sierhuis, R., & Gerstein, A. C. (2022). Acquisition of cross-azole tolerance and aneuploidy in *Candida albicans* strains evolved to posaconazole. *G3*, 12(9), jkac156.
- Lee, Y., Puumala, E., Robbins, N., & Cowen, L. E. (2020). Antifungal drug resistance: molecular mechanisms in *Candida albicans* and beyond. *Chemical reviews*, 121(6), 3390-3411.

- Logan, C., Martin-Loeches, I., & Bicanic, T. J. I. C. M. (2020). Invasive candidiasis in critical care: challenges and future directions. *Intensive care medicine*, 46(11), 2001-2014.
- Mainas, E., Apostolopoulou, O., Siopi, M., Apostolidi, S., Neroutsos, E., Mirfendereski, H., ... & Meletiadis, J. (2020). Comparative pharmacokinetics of the three echinocandins in ICU patients. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(10), 2969-2976.
- Maldonado, N. A., Cano, L. E., De Bedout, C., Arbeláez, C. A., Roncancio, G., Tabares, Á. M., ... & GERMEN, G. (2014). Association of clinical and demographic factors in invasive candidiasis caused by fluconazole-resistant *Candida* species: a study in 15 hospitals, Medellín, Colombia 2010–2011. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 79(2), 280-286.
- Martínez-Herrera, E., Frías-De-León, M. G., Hernández-Castro, R., García-Salazar, E., Arenas, R., Ocharan-Hernández, E., & Rodríguez-Cerdeira, C. (2021). Antifungal resistance in clinical isolates of *Candida glabrata* in Ibero-America. *Journal of Fungi*, 8(1), 14.
- Márquez, F., Iturrieta, I., Calvo, M., Urrutia, M., & Godoy-Martínez, P. (2017). Epidemiología y susceptibilidad antifúngica de especies causantes de candidemia en la ciudad de Valdivia, Chile. *Revista chilena de infectología*, 34(5), 441-446.
- Mba, I. E., Nweze, E. I., Eze, E. A., & Anyaegbunam, Z. K. G. (2022). Genome plasticity in *Candida albicans*: A cutting-edge strategy for evolution, adaptation, and survival. *Infection, Genetics and Evolution*, 99, 105256.
- McCort, M. E., & Tsai, H. (2023). Epidemiology of invasive candidiasis in patients with hematologic malignancy on antifungal prophylaxis. *Mycopathologia*, 188(6), 885-892.
- Mete, B., Zerdali, E. Y., Aygun, G., Saltoglu, N., Balkan, I. I., Karaali, R., ... & Ozturk, R. (2021). Change in species distribution and antifungal susceptibility of candidemias in an

- intensive care unit of a university hospital (10-year experience). *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 40, 325-333.
- Miceli, M. H., Díaz, J. A., & Lee, S. A. (2011). Emerging opportunistic yeast infections. *The Lancet Infectious Diseases*, 11(2), 142-151.
- Moreno-García, S., Cuervo-Maldonado, S. I., & Castañeda-Serrano, M. C. (2020). Candidemia in Colombia: A multicenter study of epidemiology, risk factors, and antifungal susceptibility. *Revista Chilena de Infectología*, 37(4), 339-347.
- Morio, F., Jensen, R. H., Le Pape, P., & Arendrup, M. C. (2017). Molecular basis of antifungal drug resistance in yeasts. *International journal of antimicrobial agents*, 50(5), 599-606.
- Muñoz, J. F., Gade, L., Chow, N. A., Loparev, V. N., Juieng, P., Berkow, E. L., ... & Cuomo, C. A. (2018). Genomic insights into multidrug-resistance, mating and virulence in *Candida auris* and related emerging species. *Nature communications*, 9(1), 5346.
- Murphy, S. E., & Bicanic, T. (2021). Drug resistance and novel therapeutic approaches in invasive candidiasis. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 11, 759408.
- Nucci, M., & Queiroz-Telles, F. (2017). Epidemiology of opportunistic fungal infections in Latin America. *Clinical Infectious Diseases*, 64(suppl_2), S60-S63.
- Orozco, A. S., Castro, C., & Patiño, J. F. (2019). Antifungal resistance patterns in *Candida* species isolated from ICU patients in Colombian hospitals. *Colombian Journal of Infectious Diseases*, 21(2), 116-122.
- Pappas, P. G., Kauffman, C. A., Andes, D. R., Clancy, C. J., Marr, K. A., Ostrosky-Zeichner, L., ... & Walsh, T. J. (2018). Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 62(4), e1-e50.

- Papp, C., Bohner, F., Kocsis, K., Varga, M., Szekeres, A., Bodai, L., ... & Gácsér, A. (2020). Triazole evolution of *Candida parapsilosis* results in cross-resistance to other antifungal drugs, influences stress responses, and alters virulence in an antifungal drug-dependent manner. *MSphere*, 5(5), 10-1128.
- Parra-Giraldo, C. M., Valderrama, S. L., Cortes-Fraile, G., Garzón, J. R., Ariza, B. E., Morio, F., ... & Le Pape, P. (2018). First report of sporadic cases of *Candida auris* in Colombia. *International Journal of Infectious Diseases*, 69, 63-67.
- Perlin, D. S., Rautemaa-Richardson, R., & Alastruey-Izquierdo, A. (2017). The global problem of antifungal resistance: prevalence, mechanisms, and management. *The Lancet infectious diseases*, 17(12), e383-e392.
- Pfaller, M. A., & Diekema, D. J. (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(1), 133-163.
- Pfaller, M. A., & Diekema, D. J. (2018). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Virulence*, 9(1), 16-20.
- Pfaller, M. A., Diekema, D. J., Turnidge, J. D., Castanheira, M., & Jones, R. N. (2019, March). Twenty years of the SENTRY antifungal surveillance program: results for *Candida* species from 1997–2016. In *Open forum infectious diseases* (Vol. 6, No. Supplement_1, pp. S79-S94). US: Oxford University Press.
- Pons, S., Guerin, R., & Constantin, J. M. (2024). Neumopatías nosocomiales adquiridas bajo ventilación mecánica. *EMC-Anestesia-Reanimación*, 50(1), 1-19.
- Pristov, K. E., & Ghannoum, M. A. (2019). Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. *Clinical Microbiology and Infection*, 25(7), 792-798.

- Rex, J. H., & Pfaller, M. A. (2002). Has antifungal susceptibility testing come of age? *Clinical Infectious Diseases*, 35(8), 982-989.
- Rodríguez, L., Rosa, A., Nastri, L., Nastri, N., & Jewtuchowicz, V. M. (2019). *Candida parapsilosis* Sensu Stricto: A Pathobiont in Conditions of Oral Dysbiosis. *Arch. Clin. Microbiol*, 10, 96.
- Segales Camacho, A. A. (2024). Infección fúngica invasora en los pacientes ingresados en las áreas de cuidados críticos. *Revista Médica La Paz*, 30(1), 81-87.
- Sigera, L. S. M., & Denning, D. W. (2023). Flucytosine and its clinical usage. *Therapeutic advances in infectious disease*, 10, 20499361231161387.
- Serrano, A., Álvarez-Moreno, C., & Escandón, P. (2017). Epidemiology and clinical features of candidemia in a Colombian tertiary care hospital. *Medical Mycology*, 55(6), 650-657.
- Tortorano, A. M., Prigitano, A., Morroni, G., Brescini, L., & Barchiesi, F. (2021). Candidemia: evolution of drug resistance and novel therapeutic approaches. *Infection and Drug Resistance*, 5543-5553.
- Trevijano-Contador, N., Torres-Cano, A., Carballo-González, C., Puig-Asensio, M., Martín-Gómez, M. T., Jiménez-Martínez, E., ... & Zaragoza, O. (2022, November). Global emergence of resistance to fluconazole and voriconazole in *Candida parapsilosis* in tertiary hospitals in Spain during the COVID-19 pandemic. In *Open Forum Infectious Diseases* (Vol. 9, No. 11, p. ofac605). US: Oxford University Press.
- Wiederhold, N. P. (2021, November). Antifungal susceptibility testing: a primer for clinicians. In *Open Forum Infectious Diseases* (Vol. 8, No. 11, p. ofab444). US: Oxford University Press.

- Wickes BL, Wiederhold NP. Molecular diagnostics in medical mycology. *Nature communications*. 2018 Dec 3;9(1):1-3.
- Wiederhold, N. P. (2017). Antifungal resistance: current trends and future strategies to combat. *Infection and Drug Resistance*, 10, 249-259
- Wiederhold, N. P. (2023). Antifungal Susceptibility of Yeasts and Filamentous Fungi by CLSI Broth Microdilution Testing. In *Antifungal Drug Resistance: Methods and Protocols* (pp. 3-16). New York, NY: Springer US.
- Yenişehirli, G., Alıcı, A., & Yenişehirli, A. (2023). Antifungal drug susceptibility profiles and molecular mechanisms of azole resistance in *Candida* blood stream isolates. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 45, 100389.
- Zuluaga-Rodríguez, A. (2020). *Candida auris*: estrategias y retos para prevenir un brote. *Biomédica*, 40(1), 5-10.

Apéndices

Apéndice A *Formato para la recolección de la información clínica y sociodemográfica de los pacientes de la UCI.*

Caracterización de la población de estudio		
No. Variable	Variables sociodemográficas	Paciente #:
1	Sexo	
2	Edad	
3	Régimen de seguridad social	
	Variables Clínicas	Fecha de toma de muestra:
4	Servicio hospitalario de procedencia	
5	Cirugía reciente	
6	Tipo de cirugía	
7	Uso de Catéter endovenoso	
8	Uso de sonda urinaria	
9	Soporte ventilatorio	
10	Intubación traqueal	
11	Traqueostomía	
12	Hemodiálisis	
13	Administración de terapia antibiótica	
14	Antibiótico administrado	

15	Terapia antifúngica (posterior al ingreso al servicio de UCI)	
16	Antifúngico administrado	
17	Uso de Propofol (sedación)	
18	Nutrición total parenteral	
19	Nutrición enteral	
20	Nutrición vía oral	
21	Sepsis durante hospitalización	
22	Enfermedad infecciosa bacteriana	
23	Terapia inmunosupresora	
24	Tipo de terapia inmunosupresora	
25	Administración de corticosteroides	
26	Dosis de corticosteroides	
27	Duración terapia corticosteroides	
28	Tipo de colonización (monofocal/multifocal)	
	Comorbilidades	
29	Cáncer	
30	Tipo de cáncer	
31	Diabetes	
32	Tipo de diabetes	
33	Cirrosis hepática	
34	VIH	
35	Desnutrición	
36	Falla renal	
37	Hipertensión arterial	

Apéndice B *Consentimiento informado empleado para la inclusión de los pacientes en el estudio*



Versión
14/7/23

Consentimiento informa

Desarrollo de una estrategia de medicina personalizada para el manejo preventivo, diagnóstico y tratamiento de candidiasis en Unidades de Cuidados Intensivos de adultos en el área metropolitana de Bucaramanga

Código del participante

--	--	--

Un equipo de investigadores de la Universidad Industrial de Santander (UIS), Hospital Universitario de Santander (HUS), y la Universidad Santo Tomás (USTA), está realizando un proyecto para el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de Candidiasis en la Unidad de Cuidados Intensivos de centros hospitalarios de Bucaramanga y su área metropolitana. El estudio tiene como objetivo generar un modelo para el diagnóstico y tratamiento oportuno mediante la integración de variables epidemiológicas, clínicas y genéticas en pacientes con candidiasis en Unidad de Cuidados Intensivos. Los resultados obtenidos son importantes porque serán suministrados a las autoridades de salud y a los clínicos para que los utilicen para la evaluación, el seguimiento y el tratamiento de las patologías en estos pacientes.

Para el desarrollo del proyecto se requerirá la toma de muestras de sangre total, suero, orina, piel y mucosas, con el fin de hacer seguimiento al tratamiento específico para el control de la patología y determinar posibles susceptibilidades frente al tratamiento.

En este estudio se incluyen pacientes adultos ingresados en la Unidad de Cuidados Intensivos a los que se les evaluará la presencia de *Candida* por colonización en diferentes áreas del cuerpo o en cultivo de diferentes muestras asociadas con candidiasis o candidemia y a quienes se les suministre tratamiento antifúngico contra el hongo para el control del microorganismo. Teniendo en cuenta la condición del paciente se requiere la autorización de un familiar que permita el acceso a la toma de muestras, a la historia clínica y el seguimiento al paciente.

Para conocer información básica desde el ingreso a la UCI y su estancia en ella, se revisarán las historias clínicas de los pacientes.

14/07/23

Procedimiento del estudio

Usted o su familiar será abordado por el médico tratante y demás miembros del personal de salud que están a cargo de la atención clínica y hacen parte de la institución durante su estancia en la UCI. Serán ellos quienes tomarán las muestras biológicas requeridas para este estudio y que han sido antes descritas. En ningún momento se harán procedimientos no aprobados por el personal de la UCI. Los profesionales que tomen las muestras de sangre o de orina las entregarán a un investigador del proyecto a fin de hacer los análisis respectivos.

Las muestras obtenidas serán almacenadas en el Laboratorio 404 del Centro de Estudios e Investigaciones Ambientales (CEIAM), bajo la responsabilidad de la Dra. Clara Inés Sánchez Suárez.

Por medio del presente consentimiento, se solicita su autorización para guardar las muestras para estudios de investigación futuros sobre el desarrollo de la enfermedad causada por este hongo. Así mismo, los aislamientos de hongos que se cultiven de los pacientes se guardarán para futuros estudios relacionados con resistencia antimicrobiana o factores del hongo asociados a mayor gravedad de la enfermedad.

Adicionalmente, a través del presente consentimiento informado se solicita su autorización para acceder y utilizar los datos contenidos en la historia clínica para estudios futuros sobre factores del hongo asociados al desarrollo de candidiasis o candidemia y estudios posteriores relacionados con el desarrollo de la enfermedad causada por este hongo.

Los resultados obtenidos sobre el tipo de hongo y la resistencia a los antifúngicos serán informados al médico tratante y se dejará copia a la historia clínica, con el objetivo de que el médico tratante pueda utilizar la información para direccionar el tratamiento antifúngico. Igualmente, los resultados que se generen producto de análisis adicionales también se suministrarán al médico tratante, el que le indicará el curso de acción médico más adecuado para usted.

Beneficios

Usted (o su familiar) se beneficiarán de conocer el tipo de hongo y si este es resistente o no al tratamiento antibiótico su médico tratante conocerá de primera mano los resultados del estudio y podrá, a partir de ello, cambiar la conducta terapéutica que actualmente está aplicando. Adicionalmente, la información que se obtendrá será de utilidad para conocer más acerca de su enfermedad (o del problema en estudio) y eventualmente podría beneficiar a otras personas con su misma condición.

Riesgos

La participación en este estudio no traerá ningún riesgo adicional al propio del manejo clínico que actualmente usted está recibiendo.



14/07/23

Costos

Participar en esta investigación no generará costos adicionales para usted. Todas las pruebas que se realicen serán cubiertas por el proyecto de investigación y corresponden a las que han sido financiadas desde el momento de la aprobación del mismo.

Confidencialidad

La información obtenida se mantendrá en forma confidencial. Es posible que los resultados obtenidos en la investigación sean presentados en revistas científicas y conferencias médicas, sin embargo, su nombre no será conocido. Según lo plasmado en el título II capítulo I artículo 15 de la resolución 8430: Usted o su familiar tendrán "La seguridad que no se identificará al sujeto y que se mantendrá la confidencialidad de la información relacionada con su privacidad".

Voluntariedad

La participación en esta investigación es completamente voluntaria. Usted (o su familiar) tiene el derecho a no aceptar participar o a retirar su consentimiento y retirarse de esta investigación en el momento que lo estime conveniente. Al hacerlo, usted no pierde ningún derecho que le asiste como paciente de esta institución y no se verá afectada la calidad de la atención médica que merece.

Si usted retira su consentimiento y usted los solicita sus muestras serán eliminadas y la información obtenida no será utilizada. Por motivos de seguridad puede ser necesario que analicemos sus datos obtenidos hasta ese momento de su participación. Esto lo haremos asegurando su confidencialidad.

Compensación

Usted no recibirá ningún tipo de compensación económica, le recordamos que su participación es voluntaria.

Preguntas

Si tiene preguntas acerca de esta investigación médica puede contactar o llamar al doctor Agustín Vega Vera, Investigador responsable del estudio, al teléfono 300211479

Al tener alguna duda sobre este estudio, puede preguntarnos en cualquier momento. Puede contactarse con: (Clara Inés Sánchez Suárez, cisanche@uis.edu.co como Investigadora principal).

Para preguntas, aclaraciones o inquietudes acerca de los aspectos éticos de esta investigación puede comunicarse con los dos Comités que han dado aprobación a este protocolo:



14/07/23

1.- Comité de Ética en Investigación Científica UIS (Universidad Industrial de Santander), se puede comunicar al teléfono: 6344000 ext. 3808, o enviar correo electrónico a: comitedetica@uis.edu.co



2.- Comité de Ética en Investigación ESE HUS (Hospital Universitario de Santander), se puede comunicar al teléfono: 6910030 ext. 182., o enviar correo electrónico al: comiteeticaeinvestigacion@hus.gov.co

14/07/23

Declaración y autorizaciones

Marque con una X según sea el caso para cada afirmación:

Se me ha explicado el propósito de esta investigación, los procedimientos, los riesgos, los beneficios y los derechos que me asisten y que me puedo retirar de ella en el momento que lo desee.	Sí	No
Firmo este documento voluntariamente, sin ser forzado a hacerlo.	Sí	No
No estoy renunciando a ningún derecho que me asista.	Sí	No
Se me comunicará toda nueva información relacionada con el estudio que surja durante la investigación y que pueda tener importancia directa para mi condición de salud.	Sí	No
Se me ha informado que tengo el derecho a reevaluar mi participación en esta investigación médica según mi parecer y en cualquier momento que lo desee.	Sí	No
Autorizo a acceder y usar los datos contenidos en mi historia clínica para los propósitos de esta investigación.	Sí	No

Autorizo a que se me tomen muestras de sangre, orina, piel y mucosas para los propósitos de la investigación.	Sí	No
Permito que se almacenen las muestras para estudios futuros relacionados con la enfermedad.	Sí	No
Autorizo acceder y usar los datos contenidos en mi historia clínica para estudios futuros sobre factores del hongo asociados al desarrollo de candidiasis o candidemia y estudios posteriores relacionados con el desarrollo de la enfermedad causada por este hongo.	Sí	No
Conozco que se protegerán mis datos personales y no serán divulgados, según la ley estatutaria 1581 de 2012 (octubre 17) reglamentada parcialmente por el decreto nacional 1377 de 2013 por la cual se dictan disposiciones generales para la protección de datos personales	Sí	No
Al momento de la firma, se me entrega una copia firmada de este documento.	Sí	No

<u>Nombre del participante</u>	<u>Firma de participante/familiar</u>	<u>Fecha</u>
<u>Nombre del testigo</u>	<u>Firma de testigo</u>	<u>Fecha</u>
<u>Nombre del testigo</u>	<u>Firma de testigo</u>	<u>Fecha</u>
<u>Nombre del investigador</u>	<u>Firma de investigador</u>	<u>Fecha</u>

Apéndice C

Puntos de corte clínicos (CCVs) y epidemiológicos (ECVs) para la clasificación de los perfiles de susceptibilidad en *Candida* spp

A.

Antifúngicos	Especies ¹	Puntos de corte e interpretación (CIM µg/ml) ²			
		S	I	SDD	R
Fluconazol	<i>C. albicans</i>	≤2	*	4	≥8
	<i>C. glabrata</i>	*	*	≤32	≥64
	<i>C. parapsilosis</i>	≤2	*	4	≥8
	<i>C. krusei</i>	*	*	*	*
	<i>C. tropicalis</i>	≤2	*	4	≥8
Voriconazol	<i>C. albicans</i>	≤ 0,12	0,25- 0,5	*	≥1
	<i>C. glabrata</i>	*	*	*	*
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 0,12	0,25- 0,5	*	≥1
	<i>C. krusei</i>	≤ 0,5	1	*	≥2
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 0,12	0,25- 0,5	*	≥1
Anidulafungina	<i>C. albicans</i>	≤ 0,25	0,5	*	≥1
	<i>C. glabrata</i>	≤ 0,12	0,25	*	≥0,5
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 2	4	*	≥8
	<i>C. krusei</i>	≤ 0,25	0,5	*	≥1
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 0,25	0,5	*	≥1
Micafungina	<i>C. albicans</i>	≤ 0,25	0,5	*	≥1
	<i>C. glabrata</i>	≤ 0,12	0,25	*	≥0,5
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 2	4	*	≥8
	<i>C. krusei</i>	≤ 0,25	0,5	*	≥1
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 0,25	0,5	*	≥1
Caspofungina	<i>C. albicans</i>	≤ 0,25	0,5	*	≥1
	<i>C. glabrata</i>	≤ 0,12	0,25	*	≥0,5
	<i>C. parapsilosis</i>	≤ 2	4	*	≥8
	<i>C. krusei</i>	≤ 0,25	0,5	*	≥1
	<i>C. tropicalis</i>	≤ 0,25	0,5	*	≥1

B.

Antifúngicos	Especies ¹	Puntos de corte e interpretación (CIM µg/ml)	
		Wild Type	No- Wild Type
Itraconazol	<i>C. albicans</i>	*	*
	<i>C. glabrata</i>	≤4	>4
	<i>C. parapsilosis</i>	≤0,5	>0,5
	<i>C. krusei</i>	≤1	>1
	<i>C. tropicalis</i>	≤0,5	>0,5
	<i>C. dubliniensis</i>	≤0,25	>0,25
	<i>C. orthopsilosis</i>	≤0,5	>0,5
	Posaconazol	<i>C. albicans</i>	≤0,06
<i>C. glabrata</i>		≤1	>1
<i>C. parapsilosis</i>		≤0,25	>0,25
<i>C. krusei</i>		≤0,5	>0,5
<i>C. tropicalis</i>		≤0,12	>0,12
<i>C. dubliniensis</i>		≤0,12	>0,12
<i>C. orthopsilosis</i>		≤0,25	>0,25
Anfotericina B	<i>C. albicans</i>	≤2	>2
	<i>C. glabrata</i>	≤2	>2
	<i>C. parapsilosis</i>	≤1	>1
	<i>C. krusei</i>	≤2	>2
	<i>C. tropicalis</i>	≤2	>2
	<i>C. dubliniensis</i>	≤0,5	>0,5
Voriconazol	<i>C. orthopsilosis</i>	≤2	>2
	<i>C. glabrata</i>	≤0,25	>0,25

Nota. A) Puntos de corte clínicos (CCVs). B) Puntos de corte epidemiológicos (ECVs). ¹ Estas especies también son conocidas como: *C. glabrata*: *Nakaseomyces glabrata*; *C. krusei*: *Pichia kudriavzevii*. ² S: Sensible; SDD: Sensible dosis dependiente; I: Intermedio; R: resistente. *Sin puntos de corte disponibles a la fecha. Tomado del Manual M27M44S tercera edición (2022) y M57S cuarta edición (2022) del CLSI.