

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS
CARRERA DE BIOQUÍMICA



TESIS DE GRADO
ESTUDIO DE POBLACIONES FUNGICAS RECUPERADAS POR EL
PROGRAMA DE CONTROL DE ENFERMEDADES INFECCIOSAS
DEL HOSPITAL OBRERO N° 30 DURANTE EL SEGUNDO
SEMESTRE DE LA GESTION 2020

TESIS DE GRADO PARA OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIATURA EN
BIOQUÍMICA

POSTULANTE: MOSCOSO ROJAS CARLOS JHONATAN
TUTORES: MSc. SERGIO RODRIGO QUISBERTH BARRERA
MSc. RAÚL ALBERTO MOLLO ACERO

LA PAZ-BOLIVIA

2023

DEDICATORIA

*A Dios por siempre estar a mi lado,
guiar mis pasos y su amor. A mis padres
Carlos Moscoso y Dalcy Rojas por su
paciencia, comprensión, apoyo y toda la
educación que me impartieron, al igual
que a mis hermanas, personas que siempre
amé y amaré. A mis maestros por
enseñarme a nunca darme por vencido, a
mis tutores que con su guía en el trabajo,
incentivaron mi gusto y pasión por la
carrera y lo que conlleva, demostrando ser
excelentes personas en lo laboral y lo
social pues más que unos tutores encontré
grandes amigos.*

AGRADECIMIENTOS

En especial Agradecer a mis tutores, por brindarme sus conocimientos con filantropía, altruismo, paciencia y comprensión. Al Hospital Obrero N°30 de la Caja Nacional de Salud y la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas, por abrirme sus puertas y brindarme a todos los docentes con los cuales también quedo muy agradecido. A la Lic. Maria Paz Choquehuanca responsable del Programa de control de enfermedades infecciosas, por haberme proporcionado los permisos para la toma de muestra en los ambientes del Hospital para este trabajo, además a todos los compañeros que tuve el agrado de conocer durante este tiempo de emergencia quienes me enseñaron mucho.

Tabla de contenido

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
1.1. JUSTIFICACIÓN	13
1.2. OBJETIVO GENERAL	2
1.3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	3
2. DISEÑO TEORICO	3
2.1. MARCO REFERENCIAL.....	3
2.1.1. <i>Antecedentes</i>	3
2.1.2. <i>Descripción del ámbito de estudio</i>	4
2.2. MARCO TEÓRICO	5
2.2.1. <i>Infeción nosocomial</i>	5
2.2.2. <i>Levaduras nosocomiales</i>	6
2.2.3. <i>Identificación de levaduras</i>	14
2.2.4. <i>Genes de identificación</i>	16
2.2.5. <i>Antifúngicos</i>	18
2.2.6. <i>Resistencia a antifúngicos</i>	22
2.2.7. <i>Comunidad microbiana</i>	25
2.3. MARCO CONCEPTUAL	27
2.3.1. <i>Antifúngicos</i>	27
2.3.2. <i>Levaduras</i>	27
2.3.3. <i>Concentración inhibitoria mínima</i>	27
3. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES EN ESTUDIO	28
4. DISEÑO METODOLOGICO	29
4.1. POBLACIÓN EN ESTUDIO, ÁMBITO Y PERIODO DE INVESTIGACIÓN.....	29

4.2.	TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	29
4.3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	29
4.3.1.	<i>Insumos y Reactivos</i>	29
4.3.2.	<i>Aislamiento e identificación de cultivos fúngicos</i>	29
4.3.3.	<i>Procedimientos empleados</i>	31
4.3.3.1.	Aislamiento de levaduras	31
4.3.3.2.	Cálculo de muestras	32
5.	PROCESAMIENTO DE LOS RESULTADOS	32
6.	ASPECTOS BIOETICOS	33
7.	RESULTADOS	33
8.	DISCUSIÓN	44
9.	CONCLUSION	50
11.	BIBLIOGRAFIA	52
12.	ANEXOS	59

Índice de tablas

TABLA 1. CARACTERÍSTICAS GENÉTICAS DE LAS PRINCIPALES ESPECIES DE CANDIDA Y TÉCNICAS DE TIPIFICACIÓN.....	17
TABLA 2. SECUENCIAS DE CEBADORES UTILIZADOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE LAS ESPECIES DE CANDIDA	18
TABLA 3. NÚMERO GENERAL DE CEPAS RECUPERADAS DE LOS AMBIENTES Y PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO #30 DURANTE EL SEGUNDO SEMESTRE DE LA GESTIÓN 2020 EN 2 PERIODOS DE MUESTREO.....	33
TABLA 4. NÚMERO DE CEPAS HALLADAS Y PORCENTAJES CON RESPECTO AL TOTAL Y A LA PROCEDENCIA DE LA CEPA DISTINGUIDAS POR ESPECIE DE CEPA FÚNGICA QUE FUERON RECUPERADAS DE LOS AMBIENTES Y PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO #30 DURANTE EL SEGUNDO SEMESTRE DE LA GESTIÓN 2020 EN 2 PERIODOS DE MUESTREO.....	35
TABLA 5. COMPARACIÓN DEL NÚMERO DE CEPAS DIFERENCIADAS POR ESPECIES QUE FUERON RECUPERADAS DE LOS AMBIENTES Y PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO #30 DURANTE EL SEGUNDO SEMESTRE DE LA GESTIÓN 2020 EN 2 PERIODOS DE MUESTREO.	37
TABLA 6. NUMERO DE CEPAS HALLADAS EN CADA PERIODO DE MUESTREO QUE FUERON RECUPERADAS DE LOS AMBIENTES Y PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO #30 DURANTE EL SEGUNDO SEMESTRE DE LA GESTIÓN 2020 EN 2 PERIODOS DE MUESTREO.	38
TABLA 7. NÚMERO DE CEPAS DIFERENCIADAS POR LOS AMBIENTES DE LOS QUE FUERON AISLADAS Y PERIODO DE MUESTREO EN EL HOSPITAL OBRERO #30 DURANTE EL SEGUNDO SEMESTRE DE LA GESTIÓN 2020 EN 2 PERIODOS DE MUESTREO.....	39
TABLA 8. NÚMERO DE CEPAS AISLADAS DE MUESTRAS DE PACIENTES INTERNADOS O CUYAS MUESTRAS FUERON PROCESADAS EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA DEL HOSPITAL OBRERO #30 DURANTE EL SEGUNDO SEMESTRE DE LA GESTIÓN 2020 EN 2 PERIODOS DE MUESTREO.....	41
TABLA 9. PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS Y CEPAS HALLADAS EN AMBOS PERIODOS DE MUESTREO.....	59

Índice de figuras

FIGURA 1. MECANISMOS DE ACCIÓN DE LAS DIFERENTES FAMILIAS DE ANTIFÚNGICOS.	22
FIGURA 2. ALTERACIONES EN EL TRANSPORTE DE FÁRMACOS (SOBREEXPRESIÓN DE BOMBAS, TRANSPORTADORES ABC)	25
FIGURA 3. PORCENTAJE DE MICROORGANISMOS AISLADOS DE LAS CEPAS RECUPERADAS DE LOS AMBIENTES Y PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO #30 DURANTE EL SEGUNDO SEMESTRE DE LA GESTIÓN 2020 EN 2 PERIODOS DE MUESTREO.....	34
FIGURA 4. COMPARACIÓN DE FAMILIAS DE CEPAS RECUPERADAS DE LOS AMBIENTES Y PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO #30 DURANTE EL SEGUNDO SEMESTRE DE LA GESTIÓN 2020 EN 2 PERIODOS DE MUESTREO.....	36
FIGURA 5. DIVERSIDAD DE MICROORGANISMOS HALLADOS ENTRE PERIODOS DE MUESTREO Y AMBIENTES DEL HOSPITAL OBRERO #30 DURANTE EL SEGUNDO SEMESTRE DE LA GESTIÓN 2020 EN 2 PERIODOS DE MUESTREO.....	40
FIGURA 6. COMPARACIÓN DE LAS ESPECIES DE LAS CEPAS RECUPERADAS DE MUESTRAS DE PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO #30 DURANTE EL SEGUNDO SEMESTRE DE LA GESTIÓN 2020 EN 2 PERIODOS DE MUESTREO Y EL TOTAL DE CEPAS EN GENERAL.....	42
FIGURA 7. DENDROGRAMA DE COMPARACIÓN FENOTÍPICA ENTRE LAS CEPAS RECUPERADAS DE LOS AMBIENTES Y PACIENTES DEL HOSPITAL OBRERO #30 DURANTE EL SEGUNDO SEMESTRE DE LA GESTIÓN 2020.....	43

Tabla de abreviaturas

UCI: Unidad de Cuidados Intensivos

UCIN: Unidad de Cuidados Intermedios

IAAs: Infecciones Asociadas a Ambientes

MIC: Concentración Inhibitoria Mínima

SDA: Agar glucosado Sabouraud

Resumen

Las infecciones fúngicas nosocomiales son una causa importante de morbi-mortalidad en el ámbito hospitalario, situando a la especie *Candida* como la especie más frecuente y de mayor importancia clínica, siendo importante el control de la diseminación de estas en el ambiente (personal de salud, instrumental médico y los mobiliarios), además de verificar sus patrones de susceptibilidad a los antifúngicos.

Este estudio fue realizado en dependencias del Hospital Obrero #30 de la Caja Nacional de Salud en la zona Santiago Segundo de la ciudad de El Alto, La Paz-Bolivia durante la 2da y 3ra ola de la COVID-19, llegando a estudiar 134 cepas las cuales fueron aisladas e identificadas, este total fue recuperado en 2 periodos de muestreo siendo 82 cepas en el primer y 52 en el segundo periodo de muestreo, las cuales fueron identificadas mediante el sistema automatizado VITEK® 2 (BioMérieux), además de realizar un antifungigrama por el mismo método automatizado (solo cepas que llamaban la atención, debido a factores económicos), gracias al gran número de pruebas que realiza este sistema, fue posible una comparación fenotípica, mediante el cual en base a esta tipificación pudimos inferir que cepas de ambientes eran las mismas que la de los pacientes.

Entre las cepas que se encontraron con una mayor frecuencia fueron *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. tropicalis*, además de otras especies emergentes y/o clínicamente relevantes.

Abstract

Nosocomial fungal infections are an important cause of morbidity and mortality in the hospital area, with *Candida* species being the most frequent and clinically important species. It is important to control their dissemination in the environment (health personnel, medical equipment and furniture) and to verify their susceptibility patterns to antifungals.

This study was carried out at the Hospital Obrero #30 of the Caja Nacional de Salud in the Santiago Segundo area in the El Alto City, La Paz – Bolivia during the 2nd and 3rd wave of COVID-19, we are studying 134 strains which were isolated and identified, this total was recovered in 2 sampling periods, being 82 strains in the first and 52 in the second sampling period, These were identified using the automated system VITEK® 2 (BioMérieux), in addition to performing an antifungigram by the same automated method (only strains that attracted attention, due to economic factors), thanks to the large number of tests performed by this system, it was possible a phenotypic comparison, by which based on this typing we could infer that strains from environments were the same as those of patients.

Among the strains found with a higher frequency were *C. albicans*, *C. glabrata* and *C. tropicalis*, in addition to other emerging and/or clinically relevant species.

1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Justificación

Las infecciones fúngicas son procesos patológicos que en su mayor parte son crónicos; afectando principalmente a personas inmunocomprometidas, llegando a ocasionar cuadros patológicos que pueden terminar en desenlaces funestos (Scott K. Fridkin, 1997, pág. 479).

Dentro de los géneros de mayor importancia clínica se encuentran: *Candida spp* y *Aspergillus spp*, los cuales generan infecciones de pronósticos desfavorables para los pacientes. Durante las últimas décadas las infecciones por hongos, fueron incrementando de manera alarmante, en parte porque los hongos nosocomiales presentan un comportamiento particular por el tipo de estrés al que están sujetos en ambientes hospitalarios, pero también se debe al incremento en la incidencia de múltiples enfermedades que ocasionan inmunodepresión (Cáncer; Diabetes, SIDA y Tuberculosis).

Enfermedades inmunodepresoras como el SIDA, han generado que patógenos oportunistas como *Coccidioides*, *Histoplasma*, *Blastomyces*, *Fusarium* y *Mucorales*; cobren una mayor relevancia dentro de las infecciones ocasionadas por hongos. Además, otros microorganismos como las levaduras del género *Candida*, actualmente se constituyen en patógenos oportunistas en ambientes nosocomiales (Ángel González, 2006, págs. 279-288).

Las infecciones fúngicas se caracterizan por presentar una rápida evolución y un difícil diagnóstico, y aún más complejo y prolongado tratamiento.

La mayor parte de las candidiasis nosocomiales son de origen endógeno, debido a que algunas especies de *Candida* son parte de la microbiota de la piel y mucosas. Sin embargo, se ha demostrado que algunas de estas infecciones son de origen exógeno, por levaduras provenientes de manos del personal sanitario que trabaja en los diversos servicios hospitalarios y de productos de aplicación intravenosa contaminados (Pedro Carrillo-Dover, 2009, pág. 166)

El periodo de mayor interés en la historia de las infecciones por especies de *Candida* comienza en la década de 1940, posterior a la introducción en la práctica clínica del empleo generalizado de antibióticos como tratamiento de las enfermedades infecciosas. Desde entonces hasta la actualidad los casos de Candidiasis fueron incrementándose de forma abrupta; sin embargo, la generación de documentos respecto a estas infecciones no fue elaborado en paralelo, generando un subregistro en la incidencia de casi todas las formas de Candidiasis (Mejías-Martín, Pupo-Rodríguez, Tamayo-Ortiz, & de Armas-Guerra, 2013, pág. 2). De similar manera otras micosis intrahospitalarias en la actualidad están poco estudiadas, debido a que los programas de control de infecciones asociadas a ambientes (IAAs) intrahospitalarios hacen mayor énfasis en las infecciones bacterianas.

1.2. Objetivo general

Estudiar los mohos y levaduras recuperados por el programa de control de enfermedades infecciosas del Hospital Obrero N°30 de la ciudad de El Alto durante el segundo semestre de la gestión 2020.

1.3. Objetivos específicos

- Aislar mohos y levaduras de los distintos ambientes y de muestras clínicas que ingresen al servicio de Bacteriología del Hospital Obrero N°30 de la ciudad de El Alto.
- Identificar a los mohos y levaduras aislados a partir de muestras ambientales y de muestras clínicas, mediante el uso de agares cromogénicos y el sistema VITEK-2®.
- Comparar las cepas halladas en ambientes hospitalarios y muestras clínicas usando los datos obtenidos del sistema VITEK-2®, para establecer un mapa de diseminación de las cepas mediante un dendograma.

2. DISEÑO TEORICO

2.1. Marco referencial

2.1.1. Antecedentes

Las infecciones fúngicas nosocomiales se han convertido en causa importante de morbilidad y mortalidad en el ámbito hospitalario, especialmente en pacientes críticos. La mayoría son producidas por especies de *Candida*, siendo *C. albicans* la especie más frecuente y de mayor importancia clínica; sin embargo, en los últimos años se ha observado un cambio en la frecuencia clásica, cobrando importancia las especies no albicans, tales como *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. krusei* y *C. lusitaniae*, emergiendo con ellas nuevos patrones de susceptibilidad a los anti fúngicos. Estas infecciones ocurren principalmente a partir de un foco de colonización endógeno, debido a que algunas especies son parte de la microbiota de piel y mucosas; en otras ocasiones, el origen es exógeno, tras la colonización de catéteres y dispositivos intravasculares o debido a transmisión cruzada a través de las manos del personal de salud. Se ha reportado que *C. parapsilosis*, es un agente aislado de forma frecuente en brotes

intrahospitalarios relacionados con el uso de catéteres (Yotsabeth Saúl García, 2014, págs. 27-32).

Los resultados presentados en diferentes controles evidencian aislamientos importantes de levaduras en el ambiente (equipos médicos y mobiliario) y manos del personal de salud, en la unidad de cuidados intensivos (UCI), especialmente *C. parapsilosis*, agente asociado a infección nosocomial de transmisión exógena (Yotsabeth Saúl García, 2014), (Carolina Garcia-Vidal, 2020), (Ruiz, 2020) (Laura Sante, 2019).

Se sugiere verificar el patrón de susceptibilidad anti fúngica, con la finalidad de confirmar la frecuencia de especies de *Candida* resistentes que pudieran transmitirse a los pacientes ingresados en UCI, lo cual sería un factor de riesgo importante debido a la condición clínica en que ellos se encuentran. Se recomienda extender este estudio a otros centros de salud del país, abarcando incluso la genotipificación de las especies aisladas, para compararlas con las obtenidas en pacientes a fin de establecer si existen clones ocasionando brotes de infección intrahospitalaria (Yotsabeth Saúl García, 2014, págs. 27-32).

2.1.2. Descripción del ámbito de estudio

El control microbiológico de ambientes fue realizado en el Hospital Obrero N°30 perteneciente a la Caja Nacional de Salud en la ciudad de El Alto, La Paz – Bolivia, tomando como puntos de muestreo, ambientes de la zona de aislamiento de pacientes diagnosticados con SARS-CoV-2, Unidad de Terapia Intensiva, Unidad de emergencias, Servicio de Laboratorios y comedor hospitalario verificando la existencia de cepas de mohos y levaduras y si las mismas están siendo diseminadas de forma interna en los distintos ambientes.

Las muestras fueron procesadas en el Área de Microbiología del Servicio de Laboratorio acorde a los protocolos diseñados para el Control de Enfermedades Infecciosas.

2.2. Marco teórico

2.2.1. Infección nosocomial

Las infecciones intrahospitalarias, también conocidas como nosocomiales, son infecciones contraídas durante su estadía en el hospital, las cuales no se habían manifestado ni estaban en periodo de incubación en el momento del ingreso del paciente. Son consideradas aquellas infecciones cuyo inicio es pasado las 48 horas después del ingreso del paciente. Este problema de salud pública, afecta a la totalidad de centros de salud del país, siendo que la mayoría de estos centros emiten informes mensuales acerca de su situación respecto a este tema. Estas infecciones generan en el paciente complicaciones en su recuperación e incluso generan otros problemas que pueden terminar con la muerte del paciente (Sara Irene Morales Guevara, 2020, pág. 12).

Las infecciones hospitalarias se producen por el contacto del paciente con 3 posibles fuentes: su microbiota propia, contacto con patógenos presentes en otros pacientes o en el personal sanitario y, por último, patógenos presentes en el ambiente hospitalario. Desde hace más de 20 años se considera que el origen más importante de infección nosocomial es la microbiota endógena, pero se estima que el 20-40% de las infecciones se adquieren de forma horizontal de otros pacientes o personal y el 20%, del ambiente. A pesar de que el ambiente hospitalario constituye un importante reservorio para un amplio rango de infecciones nosocomiales, veremos

que solo existen recomendaciones por parte de organismos oficiales, instituciones o sociedades científicas para algunos patógenos, como es el caso de *Legionella spp.* y *Aspergillus spp.*, y para algunos procedimientos, como el reprocesamiento de endoscopios y el control de salas para la preparación de fluidos o fármacos estériles (López-Cerero, 2013, págs. 459-460).

2.2.2. Levaduras nosocomiales

Género Candida

El género *Candida* agrupa a varias especies de levaduras capaces de causar un amplio espectro de infecciones, entre las que destaca la candidiasis invasiva que afecta a pacientes hospitalizados. La candidemia es la forma de candidiasis invasiva más común. *Candida* ocupa el cuarto lugar en la incidencia de infecciones del torrente circulatorio y las cifras de candidemia oscilan entre 1,7 y 10 episodios por cada 100.000 habitantes. Aunque se han descrito casos de candidemia causados hasta por 17 especies de *Candida*, más del 90% de los casos se atribuyen a *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* y *Candida krusei* (Laura Judith Marcos-Zambranoa, 2013, pág. 97).

La infección proviene de forma endógena y también de fuentes exógenas, como ocurre con catéteres intravenosos o prótesis cardíacas, por lo general en inmunodeficientes (Arenas, 2014).

Las infecciones por *Candida* representan 70 a 90% de las micosis invasivas en UCI, y recientemente se ha observado un cambio en la prevalencia de sus especies: *C. albicans* causa dos terceras partes de los casos, y los restantes se producen por especies no albicans; la frecuencia con la cual se identifican es: *C. albicans*, 57%; *C. glabrata*, 16.7%; *C. parapsilosis*, 7.5%; *C. krusei*, 5.2%, y *C. tropicalis*, 4.9%, sin embargo esta distribución no es fija, ya que otros autores muestran una distribución diferente, inclusive mostrando a *C. parapsilosis* por arriba de *C. albicans* (Calvo

Belinda, 2010) , de todas formas, quienes presentan candidemia tienen una mortalidad de hasta 60%. Además, se ha observado que 17% es resistente a fluconazol, sin duda por la amplia difusión de éste antifúngico como terapia empírica. Otros factores de riesgo son: empleo de antibióticos de amplio espectro, neutropenia, intervención quirúrgica reciente, así como neoplasias de órganos sólidos y hematológicas. La transmisión de una persona a otra ocurre en el recién nacido a partir de la madre que padece vaginitis, o puede ser de transmisión sexual a la pareja (Arenas, 2014).

Candida es un comensal, la mayor parte de las infecciones son endógenas y el episodio clave parece ser un cambio en la relación entre la levadura y el huésped. El proceso de infección comienza con la adherencia del microorganismo comensal a las células de la mucosa o queratinocitos, que interactúan en la relación de la pared fúngica de polisacáridos (mananos) con un receptor en la célula epitelial. Se han reconocido como adhesinas putativas los mananos, manoproteínas y quitina (Arenas, 2014).

Aunque *in vivo* la situación es más compleja que en estudios experimentales, se han postulado los mecanismos siguientes de virulencia: capacidad de adhesión; producción de enzimas proteolíticas, en especial proteasas y fosfolipasas, las cuales facilitan la penetración y la degeneración de queratina y colágeno; transformación morfológica de levadura en hifa, lo que también favorece la penetración y permite evadir el sistema de defensa, pues la hifa libera mayor cantidad de fosfolipasas y es más resistente a la fagocitosis; efectos inmunorreguladores de determinantes fúngicos que contribuyen a disminuir la actividad de las defensas del huésped; cambios fenotípicos, que permiten al hongo adaptarse a condiciones diferentes o cambiantes (Arenas, 2014).

- *Candida albicans*: Microorganismo habitual de la piel y mucosas del ser humano, es la principal causa de candidemia y responsable del 50% de los casos. Gracias a su capacidad para

formar biopelículas puede adherirse a catéteres y otros dispositivos médicos implantables mediante polímeros que les permiten una fuerte unión, y les confieren capacidad defensiva y mayor resistencia a los antifúngicos.; también se ha encontrado en soluciones de nutrición parenteral y en el medio hospitalario. Sin embargo, se ha constatado un aumento en el número de casos de candidemia causados por otras especies de *Candida*, aunque con marcadas diferencias geográficas (Laura Judith Marcos-Zambranoa, 2013, pág. 98) (Arenas, 2014).

- *Candida glabrata*: También denominada controversialmente como *Nakaseomyces glabrata* en Estados Unidos y el norte de Europa, es la segunda especie en términos más frecuente en muestras clínicas, siendo la tercera especie más encontrada en España; su incidencia parece estar aumentando (Laura Judith Marcos-Zambranoa, 2013, pág. 98) (Andrew M. Borman, 2021), Los blastoconidios de *C. glabrata* no asimilan el inositol y no poseen pigmento carotenoide. Es inhibida por la cicloheximida al 0,01%. La temperatura máxima de crecimiento es de 43-45°C y la temperatura óptima para las cepas de origen clínico es de 35-37°C. Solamente fermenta la glucosa y la α -trealosa. Estos mismos azúcares son asimilados además del D-gluconato y el D y L-lactato. La gran mayoría de las cepas solamente utilizan la glucosa y la α -trealosa en las pruebas de auxonograma comercial. La siembra de esta especie en medios cromogénicos como el CHROMagar®, origina colonias de color variable, de lila a púrpura (Josep M. Torres-Rodríguez, 2000).
- *Candida tropicalis*: Es la segunda especie más frecuentemente aislada en algunas regiones como Brasil o la región Asia-Pacífico. Es causa conocida de infecciones sistémicas en pacientes con cáncer, especialmente aquellos con leucemia, y presenta una mortalidad que oscila entre el 33 y el 90% (Laura Judith Marcos-Zambranoa, 2013, pág. 98). Esta *Candida* produce pseudohifas con blastoconidios sostenidos de manera individual o en pequeños grupos

irregulares a lo largo de las pseudohifas en los puntos de constricción. Dado que este patrón no es específico, son necesarios estudios de asimilación de hidratos de carbono o el empleo de sistemas de identificación de levaduras manuales o automatizados (Gary W. Procop, 2017).

- *Candida dubliniensis*: Esta levadura fue identificada como nueva especie en 1995 por J. Sullivan. El aislamiento se realizó en Dublín (Irlanda), razón por la que se denominó “dubliniensis”, en un paciente VIH con infección orofaríngea. Desde los comienzos de la década de los 90 se estaba estudiando la aparición de una nueva especie que presentaba tubo germinal y clamidosporas, pero en la que la hibridación con la prueba de “fingerprinting” 27A de *C. albicans* era negativa: después de cinco años en estudio se denominó *C. dubliniensis*.

Los estudios realizados posteriormente demostraron la menor patogenicidad de *C. dubliniensis* comparada con la de *C. albicans*, siendo sus factores de virulencia más relevantes la producción de hifas y la capacidad de tolerar un medio con elevada temperatura y alta concentración de NaCl y H₂O₂. Al contrario que ocurre con *C. albicans*, *C. dubliniensis* no forma parte de la microbiota normal del hombre, provocando infecciones en menos de un 2% de los casos. *Candida dubliniensis* aparece normalmente asociada con episodios recurrentes orales como gingivitis y, aisladamente, en muestras vaginales de pacientes inmunodeprimidos. En alguna ocasión también se han descrito infecciones en pacientes con tratamiento citotóxico para el rhabdomiosarcoma y en pacientes hematológicos con trasplante alogénico.

Por último, revisaremos el patrón de sensibilidad que presenta *C. dubliniensis*, destacando su alta sensibilidad frente a los antifúngicos utilizados en clínica, con la salvedad del fluconazol. Es característica la adquisición de resistencia adquirida a fluconazol in vitro, no observada frente al resto de azoles (itraconazol, ketoconazol, voriconazol, etc.), destacando como mecanismo de resistencia más frecuente la sobreexpresión de la proteína Mdr1p (codificada por

el gen CdCDR1), mientras que en *C. albicans* la proteína que se sobreexpresa es Cdr1 (gen CDR1-CDR2) (Mazuelos, 2004).

- *Candida krusei*: Denominada *Pichia kudriavzevii* taxonomía dada en base a estudios genómicos cuya distinción aun es discutida, aunque es una especie menos frecuente, que se asocia a pacientes con neutropenia con tumores hematológicos o sólidos. Raramente se asocia la infección con el catéter. Su resistencia intrínseca al fluconazol y el uso amplio de este antifúngico como profilaxis puede explicar el aumento en las infecciones por este microorganismo (Laura Judith Marcos-Zambranoa, 2013, pág. 98) (Andrew M. Borman, 2021).
- *Candida lusitanae*: *Candida lusitanae* está siendo reconocida como un patógeno nosocomial emergente en los pacientes graves e inmunodeprimidos, por lo general de pronóstico fatal, si bien el aislamiento de esta levadura en la práctica clínica es, por fortuna, muy infrecuente. Se ha descrito como causa de casos fatales de infecciones sistémicas. A pesar de lo infrecuente, su interés clínico radica en su capacidad para desarrollar resistencia a la anfotericina B, fundamentalmente en el contexto de tratamiento con este fármaco.

Microscópicamente, *C. lusitanae* está constituida por células gemantes de forma elipsoidal. No forma hifas ni, en consecuencia, presenta tubo germinal, aunque es frecuente observar la formación de pseudomicelio. En los medios de cultivo habituales, las colonias son de color y aspecto cremoso, deslizantes, blandas y suaves. El teleomorfo es *Clavispora lusitanae*. Desde el punto de vista bioquímico, la especie se reconoce por la asimilación de sorbosa, ramnosa y 2-ceto-D-gluconato; no reduce los nitratos ni crece en ausencia de piridoxina (Carmina Lloret Sos, 2002)

- *Candida guilliermondii*: Es una levadura emergente que produce fungemia, osteomielitis y peritonitis, con baja sensibilidad al fluconazol y a la anfotericina B (M. V. Pinoni, 2007), causante de 0,7% de las candidiasis a nivel mundial y 3,7% en Latinoamérica (Salvador Gómez, 2011).
- *Cryptococcus laurentii*: El género *Cryptococcus* incluye muchas especies, de las *C. neoformans* es el mayor referente como patógeno humano, aunque existen referencias en la literatura de otras especies (*Cryptococcus laurentii* y *Cryptococcus albidus*) que han producido enfermedad en humanos, especialmente en los inmunodeprimidos.

Los criptococos son levaduras redondas u ovals (3,5-8 µm), que se reproducen por gemación única, con un cuello estrecho entre la célula madre y la hija. Excepcionalmente se observa gemación múltiple, formas alargadas y pseudohifas. Poseen una cápsula de naturaleza polisacarídica que le confiere virulencia, protegiendo al hongo de la fagocitosis, y cuyo tamaño varía dependiendo de la cepa y del medio de cultivo que se utilice para aislar la levadura. Se puede observar por examen en fresco con tinta china, tinción negativa que tiñe toda la preparación excepto la cápsula.

Crece muy bien en todos los medios de cultivo formando colonias mucosas, aunque con el tiempo pueden aparecer secas; el color es muy variable (crema, ocre, rosa, amarillo), virando a tonos más oscuros con la edad. Las cepas que poseen una cápsula muy pequeña, forman colonias similares a las del género *Candida*. Tienen metabolismo aerobio, por lo que no son fermentadoras, producen ureasa y utilizan varios hidratos de carbono. Las distintas especies de criptococos se diferencian entre sí por una serie de características: crecimiento a 37° C, asimilación de la sacarosa, lactosa, galactosa, melobiosa, celobiosa, rafinosa, trealosa y

dulcitol, utilización de KNO_3 y producción de ureasa y fenil-oxidasa (Estrella Martín-Mazuelos, 2000).

- *Candida ciferrii*: En los últimos años se ha observado que las infecciones por levaduras en pacientes inmunodeficientes son cada vez más frecuentes y el número de especies implicadas va en aumento. *C. ciferrii* se ha descrito solo ocasionalmente en infecciones en humanos, casi siempre produciendo onicomicosis. Esta levadura cuyo estado teleomorfo se corresponde con *Stephanoascus ciferrii*. La asimilación de inositol es un carácter casi exclusivo de esta especie de *Candida* compartiendo este carácter con *Cryptococcus*, además esta levadura presenta resistencia a fluconazol e incluso se describe una MIC de 2mg/L frente a anfotericina B (Pedro García-Martos, 2004).
- *Candida famata*: Es una especie de levadura de la familia Saccharomycetaceae, representa hasta el 2% de los casos de candidiasis invasiva (Nicolás D. Beyda, 2013) (Andrew M. Borman, 2021). Esta es una levadura halotolerante, que sobreproduce la vitamina B₂ asociada en principio a la curación de ciertos quesos y carnes porcinas, pero debido a su alta resistencia a diferentes medios, ha sido adaptada para diversos procesos industriales, tales como la reducción de compuestos tóxicos asociados con la minería. También se encuentra asociado a múltiples otras manifestaciones, tales como septicemia, vaginitis y onicomicosis, entre otras (Alfredo A. Sánchez-Betancourt, 2017).
- *Candida intermedia*: Una de las principales causas de deterioro en los alimentos se debe a la acción de diferentes tipos de microorganismos (bacterias, levaduras y mohos) (Sauceda, 2011). Las levaduras son consideradas un problema potencial en los jugos de naranja concentrados, jugos refrigerados y productos lácteos, debido a su habilidad para sobrevivir y crecer bajo condiciones ambientales adversas (Palop A., 2000). Se ha demostrado que *Candida intermedia*

es una levadura capaz de resistir los procesos normales de pasteurización comercial, ocasionando frecuentemente el deterioro de jugos y de productos lácteos pasteurizados (Medina Z., 2001).

Fueron pocos los casos clínicos de importancia hallados y nulos los estudios al respecto.

- *Candida parapsilosis*: Es un hongo levaduriforme que fue aislado por primera vez en 1928, a partir de las heces de un paciente con diarrea en Puerto Rico. La levadura fue nombrada originalmente *Monilia parapsilosis* y aunque en un principio se le consideró el anamorfo del ascomiceto *Lodderomyces elongisporus*, diversos estudios probaron que se trataba de un taxón distinto (Rogelio de J. Treviño-Rangel, 2012).

Candida parapsilosis es un microorganismo diploide morfológicamente caracterizado por células redondeadas, ovals o alargadas y producción de pseudohifas. Estas últimas se encuentran vinculadas de manera importante a un conjunto específico de aminoácidos, particularmente citrulina, la cual origina cambios importantes en la morfología celular y colonial del microorganismo (Rogelio de J. Treviño-Rangel, 2012). La segunda especie más frecuente en España y Latinoamérica, puede encontrarse en piel y mucosas. Su alta capacidad de formar biopelículas hace que sea posible encontrarla en catéteres y otros dispositivos implantables, así como persistir en el medio hospitalario; esto la convierte en un patógeno de transmisión hospitalaria por parte del personal sanitario. Su menor capacidad patogénica explica la menor tasa de mortalidad de los pacientes infectados (Laura Judith Marcos-Zambrano, 2013, pág. 98). Es ya considerada como un importante patógeno emergente, asociado de manera creciente a un amplio espectro clínico de infecciones (Rogelio de J. Treviño-Rangel, 2012).

- *Candida auris*: Es una levadura emergente, que en los últimos años se hizo más conocida, principalmente durante el periodo de pandemia por SARS-CoV-2, por su frecuencia de aislamiento. Se caracteriza por ser una levadura ovalada que rara vez forma pseudohifas. Habitualmente se presenta como colonias rosadas, moradas o blancas en CHROMagar® *Candida*. Se observa que suelen agregarse entre sí, lo que explicaría su capacidad de resistencia a detergentes, luz UV y otros métodos de limpieza, a esto se incluye su capacidad de formar Biofilms (Carne Salvador García, 2020).

Es una levadura emergente multirresistente que se ha asociado a brotes de infecciones intrahospitalarias alrededor del mundo, incluyendo instituciones de salud de Latinoamérica (Zuluaga-Rodríguez, 2020, págs. 5-10).

2.2.3. Identificación de levaduras.

La identificación de las levaduras se puede llevar a cabo atendiendo a cuatro criterios diferentes: morfológicos, bioquímicos, inmunológicos o genéticos (María José Linares Sicilia, 2007, pág. 11.1).

Mediante la observación morfológica se pueden usar criterios macro y microscópicos, la mayoría de los organismos levaduriformes crecen fácilmente en un gran número de medios de cultivo usados rutinariamente en el laboratorio de Microbiología (agar sangre, agar chocolate, agar CLED, etc.). Sin embargo, el agar glucosado de Sabouraud (SDA), con o sin antibióticos añadidos, es el medio de aislamiento por excelencia para la identificación de levaduras, microscópicamente se pueden observar cuerpos grandes levaduriformes mediante tinciones simples, para la identificación de subespecies como *Candida albicans* y *Candida tropicalis* se puede inducir la formación de tubos germinales, sólo *Candida albicans* es capaz de producir verdaderos tubos germinales; sin embargo, otras especies como *Candida tropicalis* pueden producir pseudohifas

precoces de aspecto similar a los tubos germinales pero con una zona de constricción característica adyacente a la célula madre, por lo que esta prueba es útil para diferenciar *Candida albicans* del resto de las especies de *Candida*, aunque no está exenta de falsos negativos (María José Linares Sicilia, 2007, pág. 11.2).

En base a su actividad metabólica se pueden identificar diferentes levaduras del género *Candida* mediante el uso de medios de cultivo cromogénicos los cuales están diseñados para el aislamiento e identificación de algunas especies del género *Candida* tras su incubación a 30-37 °C durante 24 a 48 h. El fundamento de los mismos se basa en la detección de determinadas actividades enzimáticas por parte de las levaduras mediante la hidrólisis específica de un sustrato cromogénico en presencia de un indicador de la enzima. Una de las principales ventajas de estos medios es permitir diferenciar fácilmente los cultivos mixtos (María José Linares Sicilia, 2007, pág. 11.3).

Bajo criterios inmunológicos en el mercado existen varios sistemas enzimáticos comercializados para la identificación rápida de *C. albicans* a partir de una colonia aislada en cualquiera de los medios convencionales. En todos ellos se detecta una o dos enzimas (β -galactosaminidasa y L-prolina aminopeptidasa), sólo presentes en *C. albicans*. Para la detección de estas enzimas, los sistemas comerciales pueden utilizar sustratos fluorogénicos o cromogénicos requiriendo el empleo de una lámpara de luz ultravioleta de 365 nm (María José Linares Sicilia, 2007, pág. 11.4).

El empleo de criterios moleculares o genéticos se detallará en la parte de “genes de identificación”.

En la actualidad se han comercializado diversos métodos de asimilación de nutrientes que simplifican tanto su uso como su interpretación, en este caso el sistema VITEK-2® (bioMérieux) es un sistema totalmente automático para la detección del metabolismo fúngico que puede identificar levaduras y organismos afines en tan sólo 15 h. Está basado en tecnología de fluorescencia y se compone de las tarjetas de análisis con 63 pocillos, una consola satélite para la recogida de información, un módulo incubador, un módulo principal donde se procesa la información gracias a un software de análisis y un sistema experto avanzado (María José Linares Sicilia, 2007, pág. 11.3.4).

El sistema VITEK-2® permite la identificación de 51 especies diferentes, incluida *C. dubliniensis*, y, al igual que los sistemas semiautomáticos, requiere pruebas adicionales (fundamentalmente morfológicas) en caso de baja discriminación (María José Linares Sicilia, 2007, pág. 11.3.4).

2.2.4. Genes de identificación

Las técnicas de tipificación molecular permiten estudiar la relación genética existente entre 2 o más aislamientos de la misma especie de *Candida*. Por tanto, el paso previo al estudio genotípico es obtener una identificación precisa de la especie.

Las técnicas de tipificación molecular pueden agruparse en base a los elementos que evalúen en 2 grandes grupos. Uno de ellos engloba las técnicas basadas en procedimientos de análisis del DNA, y el otro evalúa indirectamente la expresión genética mediante el análisis de enzimas o patrones proteicos. Las principales técnicas genotípicas descritas para la caracterización de cepas de *Candida spp.* (Laura Judith Marcos-Zambrano, 2013, págs. 97-103) se recogen en la tabla 1.

La PCR es un método de gran alcance permitiendo la amplificación exponencial de fragmentos específicos de DNA. En caso de levaduras se usa especialmente los que tienen como diana las secuencias de los genes ribosomales. Para el estudio de estos microorganismos se estudian dos regiones (ITS1 e ITS2), separan los genes ribosomales 18S, 5.8S y 28S. El desarrollo de la PCR y diseño de primers han facilitado los estudios taxonómicos, características y fitogenéticas de hongos lo cual podemos observar en la tabla 2 (Domínguez, 2020).

Tabla 1. Características genéticas de las principales especies de *Candida* y técnicas de tipificación Tomado de: (Laura Judith Marcos-Zambrano, 2013)

Especie	Ploidia	Especies relacionadas	Técnicas de tipificación molecular específicas para cada especie
<i>C. albicans</i>	Diploide	<i>C. dubliniensis</i>	<i>C. albicans</i> : multilocus sequence typing, Southern blot con sondas CA27 y Ca3, short tandem repeats y MALDI-TOF. <i>C. dubliniensis</i> : multilocus sequence typing
<i>C. tropicalis</i>	Diploide		Short tandem repeats y multilocus sequence typing.
<i>C. glabrata</i>	Haploide	<i>C. bracarensis</i> <i>C. nivariensis</i>	Multilocus sequence typing, random amplified polymorphic DNA, short tandem repeats y Southern blot con sondas Cg6 y Cg12.
<i>C. parapsilosis</i>	Diploide	<i>C. orthopsilosis</i> <i>C. metapsilosis</i>	<i>C. parapsilosis</i> : short tandem repeats, Southern blot con sonda Cp-13 Rep-PCR y MALDI-TOF.
<i>C. krusei</i>	Diploide		Short tandem repeats, multilocus sequence typing, pulse field gel electrophoresis y Southern blot con sonda CkF1,2

Nota: Esta tabla muestra las características genéticas entre las principales especies de *Candida* y las técnicas de tipificación molecular específicas para cada una.

Tabla 2. Secuencias de cebadores utilizados para la identificación de las especies de *Candida*
Tomado de: (Domínguez, 2020)

Especie	Primer	Secuencia 5' - 3'	Gen	Pb	
<i>Candida spp.</i>	UN11	GTCAAACCTGTCATTA	ITS1 ITS2		
	UN12	TTCTTTTCCTCCGCTTATTG			
<i>C. albicans</i>	Calb	AGCTGCCGCCAGAGGTCTAA		446 – 583	
<i>C. glabrata</i>	Cgla	TTGTCTGAGCTCGGAGAGAG		839 – 929	
<i>C. guilliermondii</i>	Cgui	TTGGCCTAGAGATAGGTTGG		512 – 668	
<i>C. krusei</i>	Ckru	CTGGCCGAGCGAACTAGACT		169 – 590	
<i>C. tropicalis</i>	Ctrop	GATTTGCTTAATTGCCCCAC		507 – 583	
<i>C. auris</i>	Cauf	CGCACATTGCGCCTTGGGGTA		5.8S Rdna	163
	CauR	GTAGTCCTACCTGATTGAGGCGAC			
<i>C. parapsilosis</i>	CparF	AGCAATCAAGGAGAGGTGCCCA		Topoisomerasa	370 – 570
	CparR	CTCGTACCAGCCTTGTTCATC	11		

Nota: Esta tabla muestra las secuencias de los diferentes cebadores para diferenciación de *Candida* con sus primers y los genes que codifican.

2.2.5. Antifúngicos

Los antimicóticos pueden ser fungistáticos o fungicidas según inhiban el crecimiento o produzcan lisis de los hongos. Los más utilizados son los derivados imidazólicos que actúan en un componente importante de la membrana del hongo, el ergosterol, el cual es un lípido de la familia de los esteroides que actúa dándole fluidez, simetría e integridad; además de contribuir en funciones propias de muchas enzimas como la quitinsintetasa, que es importante para el crecimiento y división de la propia célula. Los derivados imidazólicos inhiben las enzimas oxidativas asociadas al citocromo P450 [CYP 3A4 y CYP 2C9] (lanosterol 14- α desmetilasa), bloqueando la conversión de lanosterol en ergosterol, lo que produce una alteración en la permeabilidad de la membrana de las células fúngicas. Además, promueven la acumulación de peróxido de hidrógeno capaz de lesionar la estructura de los organelos intracelulares del hongo (Karina López-Ávila, 2016, págs. 127-136).

Los fármacos varían en cuanto a su eficacia sobre los diversos grupos de hongos, en la actualidad se pueden clasificar en dos grupos: en primer lugar, antibióticos naturales, como los polienos y las equinocandinas, y en segundo lugar fármacos sintéticos, como los azoles y las pirimidinas fluoradas, dado que gran parte de estas infecciones son superficiales, existen muchos compuestos preparados para administración tópica. Muchos fármacos antimicóticos son bastante tóxicos y cuando se necesita un tratamiento sistémico, se deben usar bajo estricta vigilancia médica (H. P. Rang, 2016).

- Anfotericina: Actúa sobre la membrana celular fúngica, interfiriendo con su permeabilidad y con sus funciones transportadoras mediante la formación de grandes poros en la membrana. El núcleo hidrófilo de la molécula en forma de rosquilla crea un canal iónico transmembrana, lo que se traduce en alteraciones notables en el equilibrio iónico, principalmente en pérdida de potasio intracelular. La anfotericina tiene una acción selectiva, de modo que se une con avidez a las membranas de los hongos y algunos protozoos, con menos avidez a las células de los mamíferos, y no se une a las bacterias. La relativa especificidad por los hongos puede deberse a la mayor afinidad del fármaco por el ergosterol (el esteroles de la membrana micótica) que por el colesterol, el principal esteroles de la membrana plasmática de las células animales. La anfotericina es activa frente a la mayoría de los hongos y levaduras, y es el tratamiento de elección para las infecciones diseminadas por gérmenes, como *Aspergillus* y *Candida*. La anfotericina potencia también el efecto antimicótico de la flucitosina, lo que permite disponer de una combinación sinérgica útil (H. P. Rang, 2016).
- Equinocandinas: Las equinocandinas comprenden un anillo de seis aminoácidos unidos a una cadena lateral lipófila. Todos los fármacos de este grupo son modificaciones sintéticas de la equinocandina B, que se encuentra presente de forma natural en *Aspergillus nidulans*. Todos

los miembros del grupo de las equinocandinas tienen actividad fungicida frente a *Candida spp.* y micostática frente a *Aspergillus spp.* Inhiben la síntesis del 1,3-b-glucano, un polímero de glucosa necesario para que se mantenga la estructura de las paredes celulares micóticas. En ausencia de este polímero, estas paredes se desintegran y se produce la lisis. Se han detectado genes que confieren resistencia en *Candida* (Chen, 2011).

- La caspofungina es activa *in vitro* frente a diversos hongos y ha resultado eficaz en el tratamiento de las candidiasis y algunas formas de aspergilosis invasivas resistentes a la anfotericina. Se absorbe mal por vía oral y se administra en una dosis intravenosa diaria. La anidulafungina se aplica, principalmente, a casos de candidiasis invasiva. También se administra por vía intravenosa. Los principales efectos secundarios de ambos fármacos son náuseas, vómitos, diarreas y exantema cutáneo. La micafungina es un fármaco relativamente nuevo que también se usa principalmente para el tratamiento de la candidiasis invasiva. Comparte con otros miembros del grupo muchos de sus efectos adversos y además puede causar graves hepatopatías (H. P. Rang, 2016)
- Azoles: Los azoles son un grupo de fármacos micostáticos sintéticos con un amplio espectro de actividad antimicótica. El clotrimazol, el econazol, el fenticonazol, el ketoconazol, el miconazol, el tioconazol y el sulconazol (este último no disponible en el Reino Unido) están contruidos alrededor de un núcleo de imidazol, mientras que el itraconazol, el posaconazol, el voriconazol y el fluconazol son derivados triazólicos.

Los azoles inhiben la enzima 3A del citocromo P450 micótico (CYP3A), la lanosina 14 a-desmetilasa, que es responsable de convertir lanosterol en ergosterol, el principal esteroide de la membrana celular micótica. La consiguiente pérdida de ergosterol altera la fluidez de la membrana e interfiere en la acción de enzimas asociadas a la membrana. El efecto neto es la

inhibición de la replicación. Los azoles también inhiben la transformación de las células levaduriformes de *Candida* en hifas, la forma invasiva y patógena del parásito. La pérdida de ergosterol de la membrana reduce los puntos de unión de la anfotericina (H. P. Rang, 2016).

Fluconazol: El fluconazol se absorbe bien y puede administrarse por vía oral o intravenosa. Alcanza concentraciones elevadas en el líquido cefalorraquídeo y los líquidos oculares, y se usa para tratar la mayoría de los tipos de meningitis micótica. También se consiguen concentraciones fungicidas en el tejido vaginal, saliva, piel y uñas. Tiene una semivida de aproximadamente 25 h y se excreta casi por completo sin modificaciones en la orina.

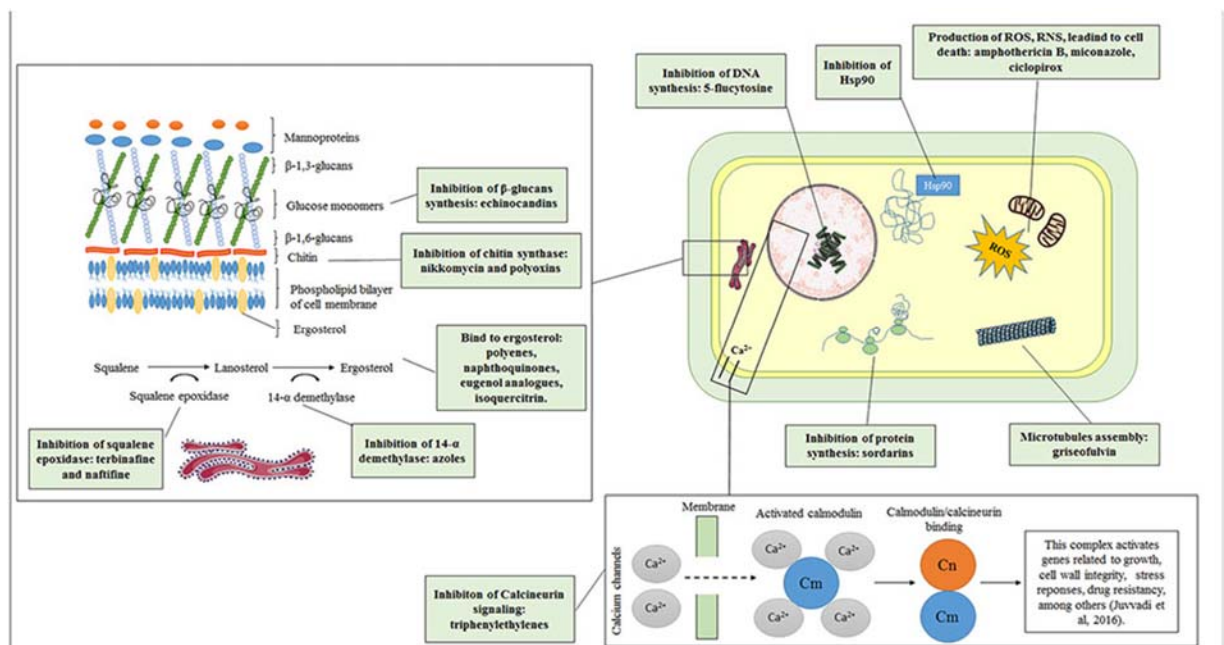
Otros azoles: El clotrimazol, el econazol, el tioconazol y el sulconazol son antimicóticos azólicos que se utilizan solo por vía tópica. El clotrimazol interfiere en el transporte de aminoácidos hacia el interior del hongo por una acción sobre la membrana celular. Es activo frente a una amplia gama de hongos, incluida *Candida*. En ocasiones, estos fármacos se combinan con glucocorticoides antiinflamatorios. El posaconazol y el voriconazol se aplican principalmente al tratamiento de las infecciones invasivas que implican riesgo vital, como la aspergilosis.

Flucitosina: Antimicótico sintético que, cuando se administra por vía oral, es activo frente a un espectro reducido de micosis sistémicas y eficaz sobre todo en las que están producidas por levaduras. Si se aplica en monoterapia, con frecuencia surge resistencia medicamentosa durante el tratamiento, de modo que habitualmente se combina con anfotericina en infecciones graves, como una candidiasis o meningitis criptocócica.

La flucitosina se convierte en el antimetabolito 5-fluorouracilo (5-FU) en las células micóticas, pero no en las humanas. El 5-FU inhibe la timidilato sintetasa y, de esta manera, la

síntesis de ADN. Pueden surgir rápidamente mutantes resistentes, de modo que no se debe utilizar este fármaco en monoterapia.

Figura 1. Mecanismos de acción de las diferentes familias de antifúngicos. Tomado de: (Liliana Scorzoni, 2017)



Nota: esquema de los mecanismos y puntos de acción de los antifúngicos

2.2.6. Resistencia a antifúngicos

El tratamiento para combatir la candidiasis puede ser tópico o sistémico según el tipo de infección, los antifúngicos más utilizados son los derivados imidazólicos (fluconazol, itraconazol, ketoconazol, miconazol etc.), sin embargo en la actualidad se observa una disminución en la efectividad de estos medicamentos, es decir, un fenómeno de resistencia de parte del microorganismo a estos fármacos, esto debido principalmente, al surgimiento de levaduras

resistentes, a la aparición de nuevas especies patógenas, a la prescripción irracional de antimicóticos como profilaxis y al aumento de las dosis terapéuticas. Existen dos mecanismos por los que *Candida* puede adquirir resistencia a un azol. El primero es por mutaciones moleculares de la enzima diana del antifúngico, como la alteración de las enzimas relacionadas en la síntesis del ergosterol y el segundo por la alteración en las bombas de expulsión: ATPbinding cassette (ABC) y facilitadores mayores (MF) (Karina López-Ávila, 2016).

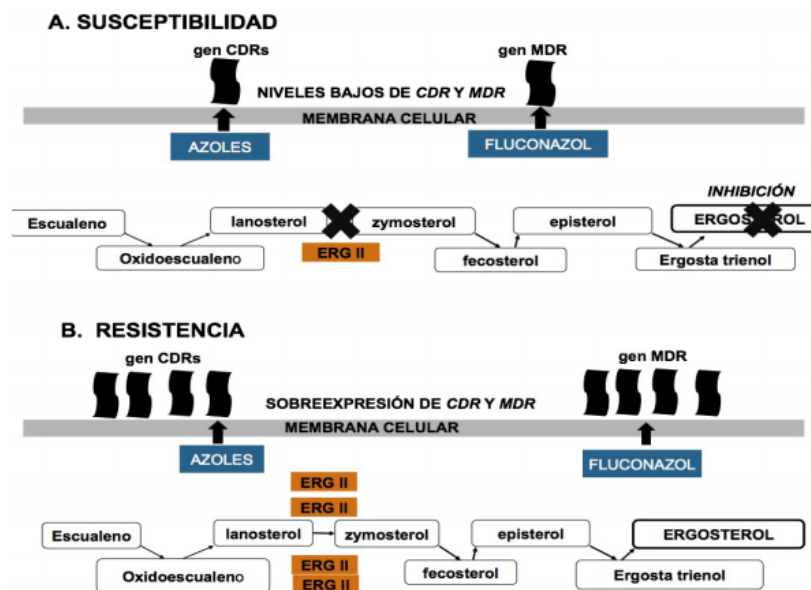
En la vía metabólica de la síntesis del ergosterol, el lanosterol y sus derivados, el sustrato es la enzima 14 α -lanosterol desmetilasa por lo que en la enzima dará lugar a la acumulación de 14alfa-metil esteroides, especialmente 14alfa-metil facosterol y el 14 α -metil-diolergosta8, 24(28)-dien-3b, 6 α -diol. En células tratadas con azoles, la presencia de 14 α -metil esteroides puede modificar la función y fluidez de la membrana plasmática, su acumulación causa la detención del crecimiento del microorganismo, sin embargo, es tolerado por *C. albicans*. Estudios recientes sugieren que la acumulación del compuesto diol también detiene el crecimiento de *C. albicans*, sin embargo, sus efectos tóxicos son eliminados gracias a una mutación en el gen ERG3, que codifica para C-5 esteroide desaturasa, que es responsable de la resistencia a los azoles y moderadamente a la anfotericina B. La enzima 14 alfa-lanosterol desmetilasa es producto del gen CYP51/ERG11, perteneciente a la familia del gen CYP51 el cual codifica proteínas que catalizan la 14 α -desmetilación del lanosterol. En la actualidad, se cuenta con la secuencia del gen y han sido detectadas varias alteraciones genéticas que se asocian con el gen ERG11 de *C. albicans*, incluyendo mutaciones puntuales en la región de codificación, la sobreexpresión y la amplificación (que conduce a la sobreexpresión) así como y la conversión génica o recombinación mitótica. Se ha identificado una mutación puntual de ERG11 en aislamientos clínicos resistentes, presentándose una sustitución de arginina por lisina en el aminoácido 467 del gen ERG11, que

contribuye a la resistencia a los azoles.^{16, 26} También la sobreexpresión del gen ERG11 origina resistencia a los azoles, ya que se ha demostrado un aumento de la transcripción de este durante la exposición a los antifúngicos azólicos, incluso en células sensibles. Se piensa que este aumento se debe a la respuesta de la célula, a la disminución del ergosterol o a la acumulación de esteroides tóxicos. Los cambios en los niveles de expresión de CYP51 pueden ocasionar el desarrollo progresivo de resistencia a los azoles puesto que se ha demostrado la existencia de un activador de la transcripción en el promotor del CYP51 en cepas resistentes. El número de copias de esta secuencia repetida en tándem se correlaciona con un plásmido que presente resistencia al itroconazol y que contiene el gen CYP51 que la resistencia a los azoles es producida por amplificación o hiperexpresión de la diana de los azoles (Karina López-Ávila, 2016). Podemos observar un breve esquema en la figura 1.

Alteración en las bombas de expulsión: ATPbinding cassette (ABC) y Facilitadores Mayores (MF). Los transportadores ATP-binding cassette (ABC) y Facilitadores mayores (MF) son un sistema de bombeo activo mediado por ATP, se localizan en la membrana citoplasmática y contribuye a la resistencia de casi todos los azoles, expulsando el fármaco hacia el exterior de la célula. Los transportadores ABC son codificados por los genes CDR (Candida Drug Resistance) y los transportadores MF son codificados por los genes MDR (Multidrug Resistance). La sobreexpresión de los transportadores es la causa más frecuente de resistencia a los antifúngicos (todos los azoles), mientras que la sobreexpresión por los genes MDR sólo confiere resistencia al fluconazol En una célula susceptible, los antifúngico azólicos entran por difusión pasiva actuando sobre la enzima lanosterol desmetilasa, que es producto del gen ERG11, lo cual inhibe la síntesis del ergosterol. Estas células sensibles presentan expresión de niveles bajos de los genes CDR y el

gen MDR. En una célula resistente, los azoles son menos efectivos contra el lanosterol 14- α -desmetilasa por la sobreexpresión de los genes CDR y MDR (Figura 2). Las células resistentes pueden tener uno o ambos mecanismos de resistencia (Karina López-Ávila, 2016, págs. 127-136).

Figura 2. Alteraciones en el transporte de fármacos (sobreexpresión de bombas, transportadores ABC) Tomado de (Karina López-Ávila, 2016)



Nota: esquema del mecanismo de resistencia a antifúngicos debido a la alteración en el transporte de fármacos.

2.2.7. Comunidad microbiana

La comunidad microbiana es definida como un ensamblaje de poblaciones de microorganismos que interaccionan entre ellas y con el ambiente de forma espacial y temporal. Dichas interacciones dependen de las poblaciones que la conforman y la distribución de las mismas en el espacio, confiriéndole a la comunidad atributos mediante los cuales es caracterizada: estructura y función (Alejandra Zamora, 2012).

La estructura de la comunidad puede ser medida y descrita en términos de composición de especies (diversidad), las cuales cumplen con funciones especializadas dentro del ecosistema (Atlas, 2002).

Además de la estructura comunitaria, determinar la diversidad funcional permite comprobar si existen patrones espaciales y temporales en una comunidad. La manera más común de determinar la diversidad funcional es cuantificar el número de grupos funcionales, también se puede conocer mediante la estimación de un índice de diversidad funcional, el cual permite establecer comparaciones entre comunidades distintas y/o seguir la evolución de una comunidad en específico frente a las variaciones de parámetros ambientales. Dicha comparación se hace a través de un número (el índice), que sugiere de forma cuantitativa el grado de semejanza en la estructura de dos o más comunidades.

A partir del análisis de cluster utilizado para lograr la separación de especies en grupos funcionales, (Gaston., 2002) proponen que el índice de diversidad funcional sea la longitud total de las ramas del dendrograma obtenido en la separación de los grupos. Sin embargo, el índice más utilizado para estimar la diversidad funcional de comunidades microbianas es el Índice de Shannon-Weaver, que se calcula a partir de datos cuantitativos obtenidos a partir del perfil fisiológico de la comunidad. Asimismo, son utilizados también los índices de Simpson y McIntosh; sin embargo, la diversidad que se mide de esta manera es la diversidad de sustratos que potencialmente son utilizados por los microorganismos integrantes de la comunidad en cuestión, más no provee información sobre la estructura comunitaria (Alejandra Zamora, 2012).

2.3. Marco conceptual

2.3.1. Antifúngicos

Los antimicóticos pueden ser fungistáticos o fungicidas según inhiban el crecimiento o produzcan lisis de los hongos. Los más utilizados son los derivados imidazólicos que actúan en un componente importante de la membrana del hongo, el ergosterol, el cual es un lípido de la familia de los esteroides que actúa dándole fluidez, simetría e integridad; además de contribuir en funciones propias de muchas enzimas como la quitinsintetasa, que es importante para el crecimiento y división de la propia célula. Los derivados imidazólicos inhiben las enzimas oxidativas asociadas al citocromo P450 [CYP 3A4 y CYP 2C9] (lanosterol 14- α -desmetilasa), bloqueando la conversión de lanosterol en ergosterol, lo que produce una alteración en la permeabilidad de la membrana de las células fúngicas. Además, promueven la acumulación de peróxido de hidrógeno capaz de lesionar la estructura de los organelos intracelulares del hongo (Karina López-Ávila, 2016, págs. 127-136).

2.3.2. Levaduras

Las levaduras son hongos unicelulares muy pequeños, que solo pueden ser vistos con microscopio y que presentan formas variadas, suelen ser esféricas, ovoideas, elipsoides o alargadas. Unas pocas presentan hifas (Domínguez, 2020).

2.3.3. Concentración inhibitoria mínima

Las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos no están tan desarrolladas como las de los antibacterianos. Los puntos de corte y los criterios de sensibilidad y resistencia de las levaduras para los antifúngicos fluconazol, itraconazol y 5-fluorocitosina sólo estaban determinados para las micosis orofaríngeas de enfermos con SIDA y para las candidemias. Por lo tanto, estos datos

pueden variar en el futuro y hay que prestar atención a las nuevas normas que vayan publicando los comités de estandarización de ensayos in vitro, tanto europeo (EUCAST) como americano (CLSI) (Emilia Cantón Lacasa, 2007).

Cabe destacar que, desde noviembre del 2017, se desarrolló el documento CLSI M-60, para la evaluación de antifúngicos frente a levaduras; el cual contempla puntos de corte frente Candidas de relevancia clínica como *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*. Sin embargo, este documento no contempla candidas ambientales y especies poco frecuentes, lo que resulta en una limitación.

3. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES EN ESTUDIO

Variable	Definición	Tipo de variable	Indicadores	Unidad de medida	Escala	Valor
Contaminación microbiológica de ambientes	Es la carga microbiana existente en cada ambiente evaluado	Cualitativo	Presencia	Presencia / ausencia	Dicotómico	Presencia / ausencia
Superficie contaminada	Es la superficie donde se realiza la toma de muestra y se evidencia presencia de mohos y/o levaduras	Cualitativo	Tipo de Superficie	Presencia / ausencia	Nominal	Mesón, Mueble, Computadora, Mesas, Escritorio Guantes Cabecera de camas
Sala contaminada	Es la denominación del ambiente donde se realiza la toma de muestra y se evidencia presencia de mohos y/o levaduras	Cualitativo	Nombre de la Sala	Presencia / ausencia	Nominal	Sala 1 A Sala 2 A Sala 2 B Sala 3 A UCI UCIN Laboratorio Comedor Oficinas Farmacia
Coinfección por levaduras	Infección simultanea de un huésped por parte de 2 o mas agentes patógenos.	Cualitativo	Presencia en muestras	Presencia/ ausencia	Nominal	Con coinfeccion/sin coinfeccion
Identificación del hongo desarrollado	Es la designación de Género y Especie, por medio de pruebas bioquímicas, de cada microorganismo aislado	Cualitativo	Metabolización de sustratos	Positivo / Negativo	Dicotómico	Positivo / Negativo
Resistencia a fármacos del hongo desarrollado	Es la verificación de la presencia de resistencia por métodos automatizados	Cualitativo	Desarrollo en presencia de antifúngicos	Positivo / Negativo	Dicotómico	Sensible / Resistente

4. DISEÑO METODOLOGICO

4.1. Población en estudio, ámbito y periodo de investigación.

Para el desarrollo del presente estudio se evaluaron todas las cepas de mohos y levaduras recuperadas por el programa de Control de Enfermedades Infecciosas del Hospital Obrero N° 30 de la ciudad de El Alto durante el segundo semestre de la gestión 2020.

4.2. Tipo de investigación

El presente estudio es de tipo experimental donde nuestra variable respuesta fue la determinación de presencia de contaminación fúngica en los ambientes evaluados.

4.3. Materiales y métodos

4.3.1. Insumos y Reactivos

Para el desarrollo del presente estudio, empleamos los medios de cultivo: Caldo BHI (Marca OXOID), agar ChromCandida (ChromAgar[®]), agar Sabouraud (Marca OXOID[™]), cápsulas de cloranfenicol (Marca Terbol) y azul de metileno (Sigma). Asimismo, se trabajó con tarjetas de identificación de hongos y antifungigrama (Marca BioMérieux[™]); siendo este último set de tarjetas aplicados en aquellos hongos que presentaban mayor relevancia clínica.

4.3.2. Aislamiento e identificación de cultivos fúngicos

Para el desarrollo del presente estudio, se empleó el método descrito por (Carmen Ezpeleta-Baquedano, 2013, págs. 396-401) modificado. Brevemente; se realizó el muestreo de ambientes, objetos y elementos de protección personal mediante la técnica de hisopeado en seco con la posterior siembra y enriquecimiento en caldo BHI modificado (5% de glucosa y rojo fenol como

indicador); posteriormente se procedió con el aislamiento en agar Sabouraud, y finalmente se realizó la preservación de la cepa hasta su evaluación en el Equipo VITEK-2®.

El sistema VITEK-2® (BioMérieux™) es un sistema automatizado para la detección del metabolismo fúngico que nos permitió identificar levaduras y organismos afines un periodo de tiempo no mayor a las 15 h. Está basado en tecnología de fluorescencia y se compone de las tarjetas de análisis con 63 pocillos (para metabolismo fúngico), una consola satélite para la recogida de información, un módulo incubador, un módulo principal donde se procesa la información gracias a un software de análisis y un sistema experto avanzado. Este sistema nos permitió la identificación de 51 especies diferentes, incluida *C. dubliniensis*, y, al igual que los sistemas semiautomáticos, requiere pruebas adicionales (fundamentalmente morfológicas) en caso de baja discriminación; sin embargo y pese a la buena capacidad de discriminación de los diferentes microorganismos, este sistema no contaba al momento de realizar el estudio los parámetros para la identificación de *C. auris*, y otros patógenos emergentes durante el periodo de pandemia.

Para realizar la identificación de las levaduras mediante el sistema automatizado VITEK-2®, iniciamos realizando la resuspensión de unas 2 a 3 colonias en tubos de 12mm x 75mm de poliestireno con 3mL de solución fisiológica y posteriormente fueron analizadas mediante el instrumento DensiCheck® (BioMérieux™) con la finalidad de ajustar nuestra población al tubo 2 de la escala de McFarland (equivalente a 0,451 de absorbancia a 600nm de λ), luego los tubos fueron cargados en el soporte del equipo de manera conjunta con las tarjetas “YST” (Identificación metabólica); en aquellos tubos donde se confirmó la presencia de hongo de relevancia clínica, también fueron empleadas las tarjetas “AST YSO1” (Panel de microdilución para antifúngicos) con la finalidad de evaluar la sensibilidad que presentaban a los antifúngicos: Fluconazol, Voriconazol, Caspofungina, Micafungina, Anfoterisina B y Flucitosina. En este último caso, antes

de depositar los tubos al soporte, las soluciones ajustadas al tubo 2 de la escala de McFarland, fueron diluidas de la siguiente manera: 280µl de suspensión fúngica con 3 ml de solución fisiológica.

Finalmente, en nuestro estudio también fueron incluidos los desarrollos fúngicos, obtenidos a partir del cultivo de muestras de pacientes internados en el Hospital Obrero N°30 de la zona Santiago II en la ciudad de El Alto – Bolivia.

4.3.3. Procedimientos empleados

4.3.3.1. Aislamiento de levaduras

Como primer paso en el aislamiento de las cepas de mohos y levaduras; se procedió a realizar un hisopado de la superficie a analizar (mesones, muebles, celulares, superficie de guantes) de los diferentes ambientes hospitalarios (Salas de internación, oficinas, Laboratorio, Comedor, Unidad de Terapia Intensiva); los hisopados fueron sembrados por superficie en placas con Agar BHI modificado, las mismas fueron diseñadas para este estudio con la adición de 5% de Glucosa y Rojo fenol para evidenciar la fermentación de glucosa.

Las cepas de levaduras aisladas fueron identificadas bajo criterios macroscópicos y microscópicos, siendo las mismas sembradas en placas de ChromCandida agar para su primera identificación, posteriormente las colonias desarrolladas fueron analizadas mediante el empleo del método automatizado en el equipo VITEK-2[®], a fin confirmar la identidad de las colonias desarrolladas, ambos procesos fueron detallados por la revista de la Asociación Española de Micología (María José Linares Sicilia, 2007).

4.3.3.2. Cálculo de muestras

Estudios previos realizados por (A. Gaudichon, 2022, págs. 1-8) mostraron que la contaminación por mohos y levaduras en ambientes hospitalarios, presenta una incidencia de 5,1% del total de las contaminaciones intrahospitalarias. En ese sentido y sobre la base de este dato referencial; realizamos la estimación del tamaño muestral mediante la fórmula de cálculo de tamaño muestral basado en prevalencia:

$$N = \frac{Z_{\alpha}^2 * p * (1 - p)}{e^2}$$

Donde:

- N: tamaño muestral
- Z: Z valor para error de 0,05 (1,95)
- p: prevalencia de infecciones fúngicas (5,1%)
- e: error esperado 0,05

Realizando el reemplazo de valores, se estimó que el tamaño mínimo de cepas requeridas para el desarrollo de esta investigación fue de 74 cepas. Sin embargo, llegamos a contar con un mayor número de cepas recuperadas, en nuestro caso llegamos a trabajar con un total de 148 diferentes cultivos desarrollados; mismos que fueron sometidos a pruebas de confirmación.

5. PROCESAMIENTO DE LOS RESULTADOS

Para el análisis de los resultados, se procedió a generar estimadores descriptivos, como frecuencia de los microorganismos, en función a los resultados generados por el análisis en el Sistema VITEK-2®; asimismo, procedimos a realizar la estimación de indicadores de diversidad

poblacional en el programa GenAlex 6.5 y finalmente realizamos un análisis de filiación mediante el desarrollo de un cladograma haciendo uso de las aplicaciones Genalex 6.5 y MEGA 11.






6. ASPECTOS BIOETICOS

Al tratarse de un estudio realizado sobre cultivos desarrollados en el laboratorio de microbiología del hospital, el mismo no requiere de la aplicación de formularios de bioética.

7. RESULTADOS

7.1. Porcentaje de cepas aisladas

Tabla 3. Número general de cepas recuperadas de los ambientes y pacientes del hospital Obrero #30 durante el segundo semestre de la gestión 2020 en 2 periodos de muestreo.

Periodo	Procedencia	Cepas Recuperadas		Diagrama de barras
		Número	Porcentaje	
T1	Pacientes	69	51,5	
	Ambientes	13	9,7	
T2	Pacientes	46	34,3	
	Ambientes	6	4,5	
T1 y T2	Población total en estudio	134	100	

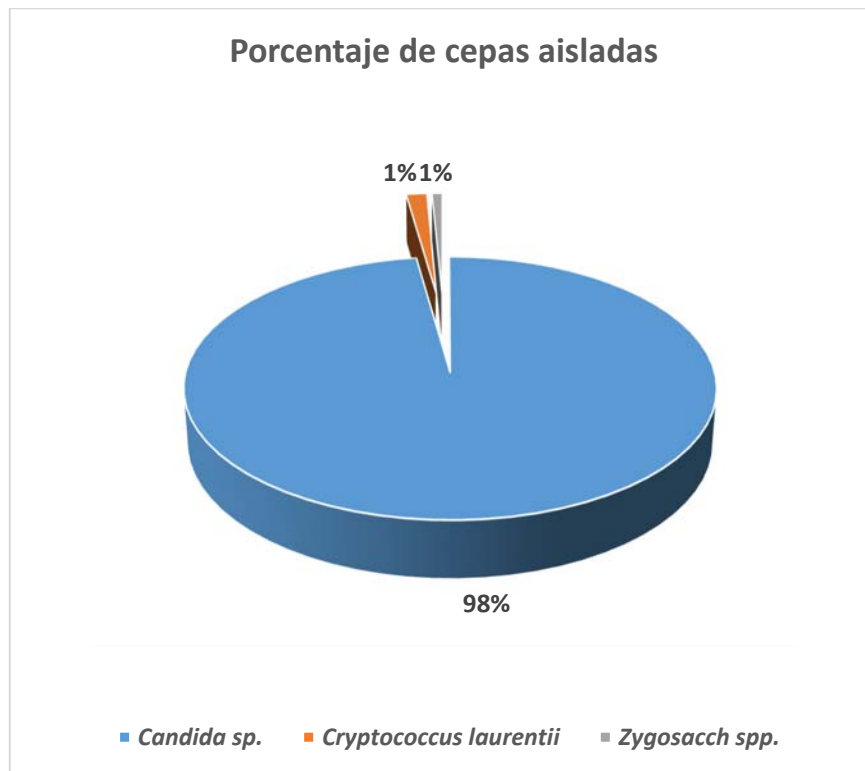
Recuento general de cepas obtenidas de Pacientes y Ambientes en los 2 periodos de muestreo (T1 y T2) representadas en un diagrama de barras horizontales para una mejor intercomparación.

En la tabla 3 se presenta el número de cepas recuperadas en los dos periodos de muestreo, así como el tipo de muestra en el que se recuperó el microorganismo. Donde se observa que el primer periodo de muestreo es donde se llegó a recuperar el mayor porcentaje de microorganismos.

En nuestro estudio, los microorganismos mayoritarios corresponden al género *Candida*, con sus diferentes especies, tal como se muestra en la Figura 3; y posteriormente tenemos los microorganismos de los géneros *Cryptococcus* y *Zygosacch spp.*, con un 1% de frecuencia.

En la Tabla 4 y Tabla 5; se presenta el número de cepas halladas en los diferentes periodos de muestreo, los cuales están separados por género, asimismo. Se muestra las diferentes especies de microorganismos hallados en nuestro estudio; donde se observan especies de *Candida* no albicans emergentes en ambientes hospitalarios.

Figura 3. Porcentaje de microorganismos aislados de las cepas recuperadas de los ambientes y pacientes del hospital Obrero #30 durante el segundo semestre de la gestión 2020 en 2 periodos de muestreo.



Porcentaje de microorganismos aislados divididas según el género de microorganismo.

Tabla 4 Número de cepas halladas y porcentajes con respecto al total y a la procedencia de la cepa distinguidas por especie de cepa fúngica que fueron recuperadas de los ambientes y pacientes del hospital Obrero #30 durante el segundo semestre de la gestión 2020 en 2 periodos de muestreo.

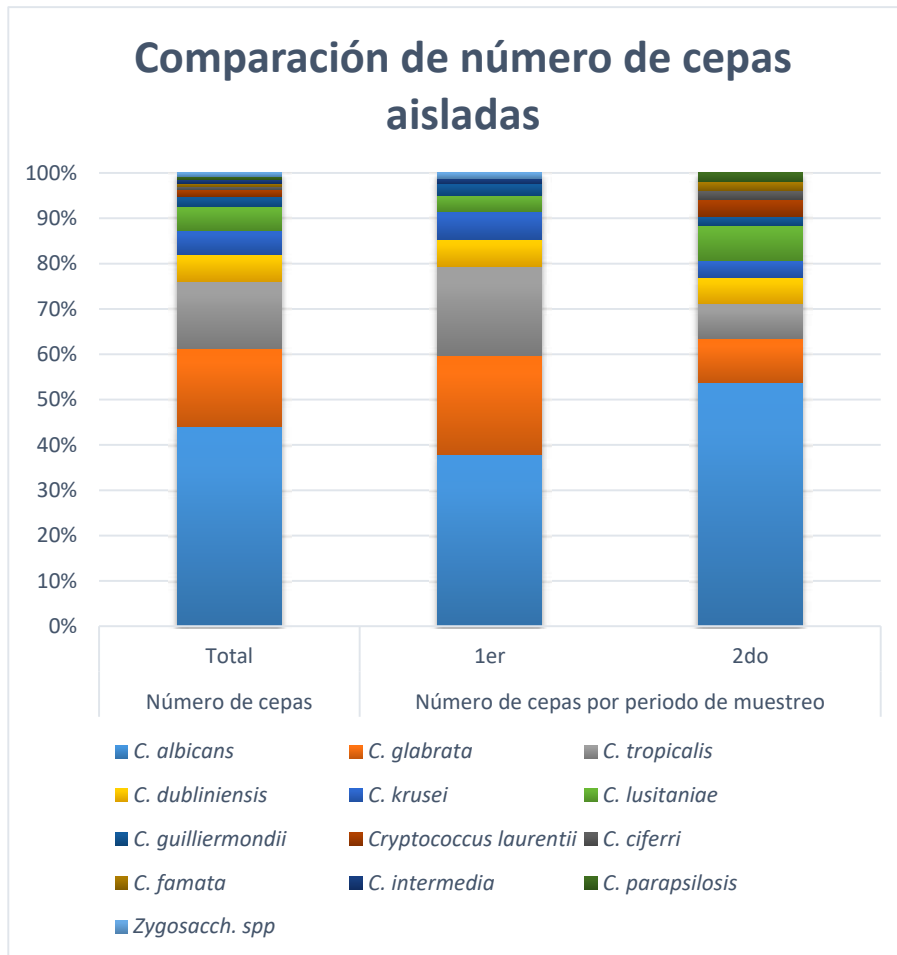
Cepas	# de cepas	# de cepas por periodo de muestreo		# de cepas en ambientes por periodo de muestreo		# de cepas en pacientes por periodo de muestreo		Porcentaje de cepas del total de muestras	Porcentaje de cepas por periodo de muestreo		Porcentaje diferenciado por periodo de muestreo			
		1°	2°	1°	2°	1°	2°		1°	2°	P-1° (*)	A-1° (**)	P-2° (*)	A-2° (**)
<i>C. albicans</i>	59	31	28	2	1	29	27	44,0	37,8	53,8	42	15,4	58,7	16,7
<i>C. glabrata</i>	23	18	5	3	2	15	3	17,2	22	9,6	21,7	23,1	6,5	33,3
<i>C. tropicalis</i>	20	16	4	1	1	15	3	14,9	19,5	7,7	21,7	7,7	6,5	16,7
<i>C. dubliniensis</i>	8	5	3	0	0	5	3	6,0	6,1	5,8	7,2	0	6,5	0
<i>C. krusei</i>	7	5	2	3	1	2	1	5,2	6,1	3,8	2,9	23,1	2,2	16,7
<i>C. lusitaniae</i>	7	3	4	1	0	2	4	5,2	3,7	7,7	2,9	7,7	8,7	0
<i>C. guilliermondii</i>	3	2	1	2	0	0	1	2,2	2,4	1,9	0	15,4	2,2	0
<i>Cryptococcus laurentii</i>	2	0	2	0	1	0	1	1,5	0	3,8	0	0	2,2	16,7
<i>C. ciferrii</i>	1	0	1	0	0	0	1	0,7	0	1,9	0	0	2,2	0
<i>C. famata</i>	1	0	1	0	0	0	1	0,7	0	1,9	0	0	2,2	0
<i>C. intermedia</i>	1	1	0	1	0	0	0	0,7	1,2	0	0	7,7	0	0
<i>C. parapsilosis</i>	1	0	1	0	0	0	1	0,7	0	1,9	0	0	2,2	0
<i>Zygosacch spp.</i>	1	1	0	0	0	1	0	0,7	1,2	0	1,4	0	0	0
Total general	134	82	52	13	6	69	46	100	100	100	100	100	100	100

Tabla detallando los totales numerales y porcentuales de las cepas aisladas:

(*) "P" se refieren a cepas recuperadas de "Pacientes" recuperadas en el primer y segundo periodo de muestreo.

(**) "A" a las cepas recuperadas de "Ambientes" recuperadas en el primer y segundo periodo de muestreo.

Figura 4. Comparación de familias de cepas recuperadas de los ambientes y pacientes del hospital Obrero #30 durante el segundo semestre de la gestión 2020 en 2 periodos de muestreo.



Comparación gráfica del número de cepas aisladas entre el periodo de toma de muestra y entre las otras cepas.

Tabla 5. Comparación del número de cepas diferenciadas por especies que fueron recuperadas de los ambientes y pacientes del hospital Obrero #30 durante el segundo semestre de la gestión 2020 en 2 periodos de muestreo.





































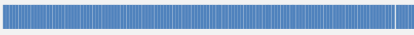
Número total de cepas		
Cepas	Número de cepas	Representación en Barra
<i>C. albicans</i>	59	
<i>C. glabrata</i>	23	
<i>C. tropicalis</i>	20	
<i>C. dubliniensis</i>	8	
<i>C. krusei</i>	7	
<i>C. lusitaniae</i>	7	
<i>C. guilliermondii</i>	3	
<i>Cryptococcus laurentii</i>	2	
<i>C. ciferrii</i>	1	
<i>C. famata</i>	1	
<i>C. intermedia</i>	1	
<i>C. parapsilosis</i>	1	
<i>Zygosacch spp.</i>	1	
Total general	134	

Tabla 6. Numero de cepas halladas en cada periodo de muestreo que fueron recuperadas de los ambientes y pacientes del hospital Obrero #30 durante el segundo semestre de la gestión 2020 en 2 periodos de muestreo.

Número de cepas por periodo de muestreo			
Cepas	Periodo de muestreo	Número de cepas	Representación en Barra
<i>C. albicans</i>	1°	31	
	2°	28	
<i>C. glabrata</i>	1°	18	
	2°	5	
<i>C. tropicalis</i>	1°	16	
	2°	4	
<i>C. dubliniensis</i>	1°	5	
	2°	3	
<i>C. krusei</i>	1°	5	
	2°	2	
<i>C. lusitaniae</i>	1°	3	
	2°	4	
<i>C. guilliermondii</i>	1°	2	
	2°	1	
<i>Cryptococcus laurentii</i>	1°	0	
	2°	2	
<i>C. ciferrii</i>	1°	0	
	2°	1	
<i>C. famata</i>	1°	0	
	2°	1	
<i>C. intermedia</i>	1°	1	
	2°	0	
<i>C. parapsilosis</i>	1°	0	
	2°	1	
<i>Zygosacch spp.</i>	1°	1	
	2°	0	
Totales	1°	82	
	2°	52	
Total general	1° y 2°	134	

Comparación mediante gráficas de barras del número de cepas clasificadas por especie que fueron recuperadas entre el 1° y 2° periodo de muestreo

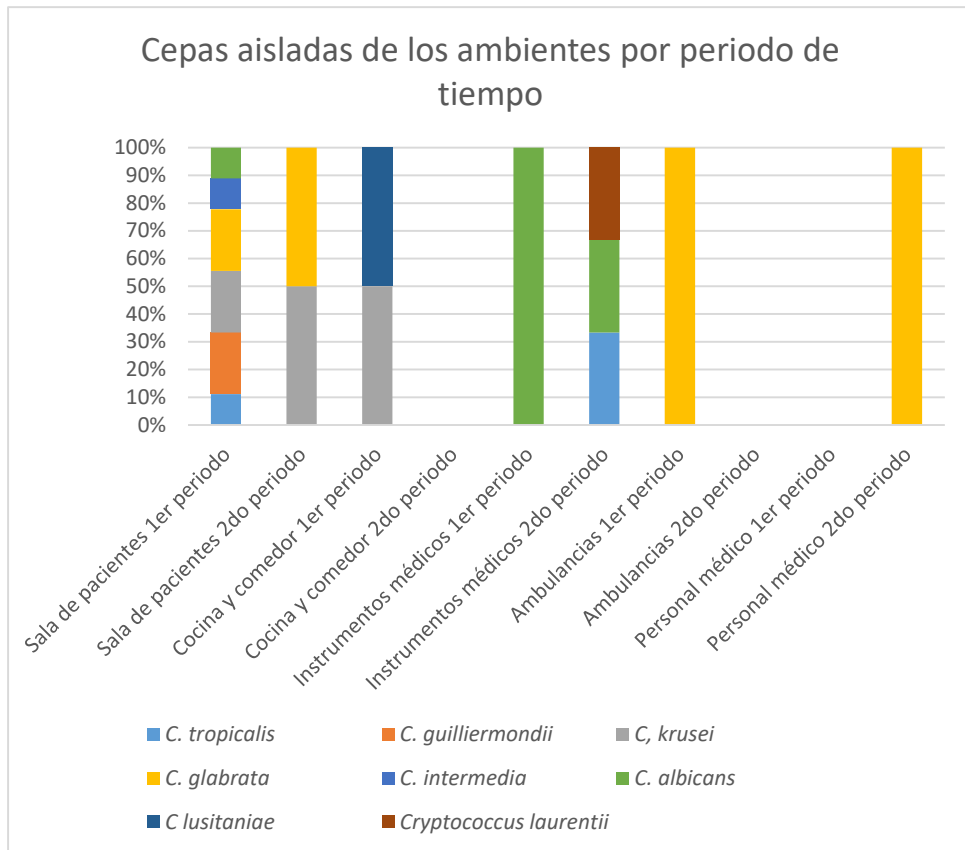
En la Tabla 7 y la Figura 4, se muestran los microorganismos aislados en función al periodo de muestreo y tipo de muestra que se analizó en el estudio.

Tabla 7. Número de cepas diferenciadas por los ambientes de los que fueron aisladas y periodo de muestreo en el hospital Obrero #30 durante el segundo semestre de la gestión 2020 en 2 periodos de muestreo.

Ambientes	1° periodo de muestreo		2° periodo de muestreo	
	Cepas	Número de cepas	Cepas	Número de cepas
Sala de pacientes	<i>C. tropicalis</i>	1	<i>C. glabrata</i>	1
	<i>C. guilliermondii</i>	2		
	<i>C. krusei</i>	2		
	<i>C. glabrata</i>	2		
	<i>C. intermedia</i>	1		
Cocina y comedor	<i>C. albicans</i>	1	<i>C. krusei</i>	1
	<i>C. krusei</i>	1		
	<i>C. lusitaniae</i>	1		
Instrumentos médicos	<i>C. albicans</i>	1	<i>C. albicans</i>	1
			<i>C. tropicalis</i>	1
			<i>Cryptococcus laurentii</i>	1
Ambulancias	<i>C. glabrata</i>	1		
Personal medico			<i>C. glabrata</i>	1

Recuento de cepas recuperadas en los distintos ambientes del hospital comparadas con diagramas de barras horizontales entre el 1° y 2° periodo de muestreo, además de los totales de cepas recuperadas en ambientes y el total de cepas recuperadas en la investigación.

Figura 5. Diversidad de microorganismos hallados entre periodos de muestreo y ambientes del hospital Obrero #30 durante el segundo semestre de la gestión 2020 en 2 periodos de muestreo.
























Gráfica de barras apiladas para la comparación entre las cepas presentes en una misma torre y las presentes en las otras torres con respecto a los distintos lugares donde fueron halladas y divididas por periodo de muestreo

En la tabla 8 observamos las diferentes cepas recuperadas de las muestras de pacientes internados y transitorios que asistieron a una atención en el hospital con sus respectivas cantidades demostradas numérica y gráficamente, en función al periodo de muestreo, para una comparación puntual y dinámica entre cepas aisladas el primer y el segundo periodo de muestreo.

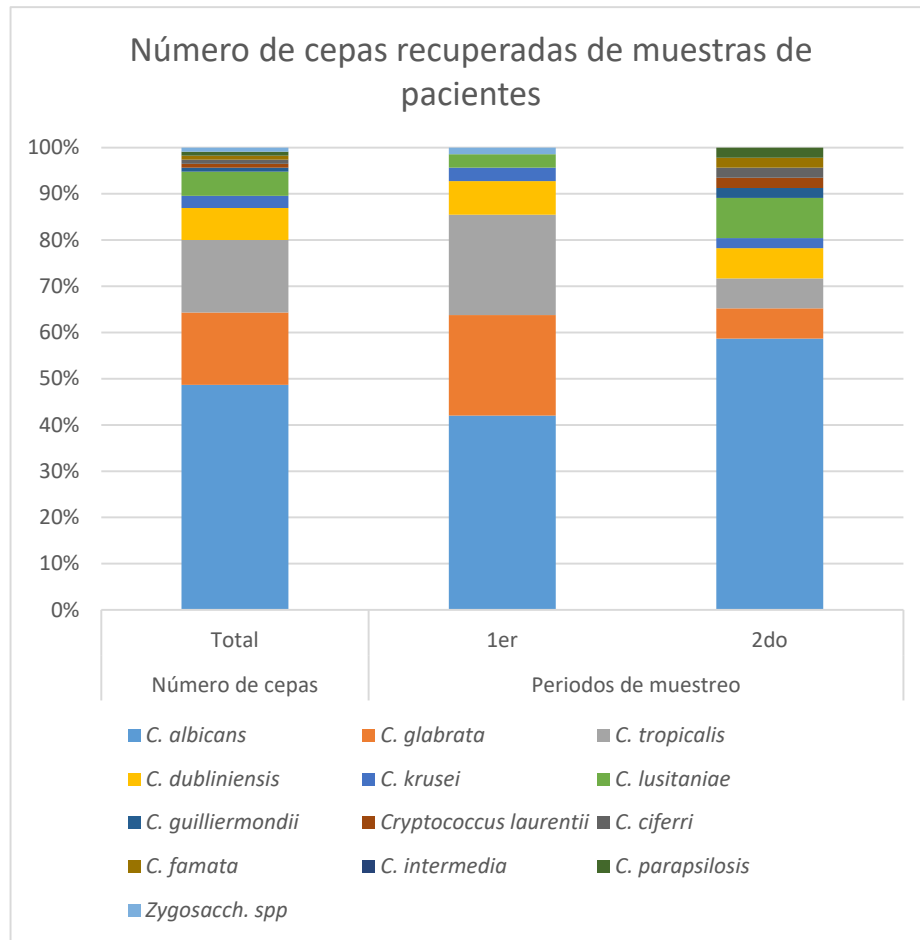
Aquí podemos notar la dominancia de *C. albicans* por sobre las otras cepas las cuales siguen la tendencia expresada en los párrafos anteriores.

Tabla 8. Número de cepas aisladas de muestras de pacientes internados o cuyas muestras fueron procesadas en el laboratorio de microbiología del Hospital Obrero #30 durante el segundo semestre de la gestión 2020 en 2 periodos de muestreo.

Número de cepas aisladas de los pacientes			
Cepas	Periodo de muestreo	Número de cepas	Representación en Barra
<i>C. albicans</i>	1°	29	
	2°	27	
<i>C. glabrata</i>	1°	15	
	2°	3	
<i>C. tropicalis</i>	1°	15	
	2°	3	
<i>C. dubliniensis</i>	1°	5	
	2°	3	
<i>C. krusei</i>	1°	2	
	2°	1	
<i>C. lusitaniae</i>	1°	2	
	2°	4	
<i>C. guilliermondii</i>	1°	0	
	2°	1	
<i>Cryptococcus laurentii</i>	1°	0	
	2°	1	
<i>C. ciferrii</i>	1°	0	
	2°	1	
<i>C. famata</i>	1°	0	
	2°	1	
<i>C. parapsilosis</i>	1°	0	
	2°	1	
<i>Zygosacch spp.</i>	1°	1	
	2°	0	
Totales	1°	69	
	2°	46	
Total general	1° y 2°	134	

Recuento de cepas recuperadas de muestras procesadas en el hospital comparadas con diagramas de barras horizontales entre el 1° y 2° periodo de muestreo, además de los totales de cepas recuperadas en ambientes y el total de cepas recuperadas en la investigación.

Figura 6. Comparación de las especies de las cepas recuperadas de muestras de pacientes del Hospital Obrero #30 durante el segundo semestre de la gestión 2020 en 2 periodos de muestreo y el total de cepas en general.



Gráfica de barras apiladas para la comparación entre las cepas presentes en una misma torre y las presentes en las otras torres

8. DISCUSIÓN

8.1. Hallazgos observados en el ambiente hospitalario

En el presente estudio se llegó a recuperar un total de 134 cepas fúngicas, las cuales fueron aisladas e identificadas durante todo el periodo de estudio, las mismas provenían de diferentes fuentes como se muestra en la Tabla 3; donde además podemos observar que los cultivos provenientes de muestras biológicas de pacientes representan el porcentaje mayoritario; llegando a superar el 85% de las cepas analizadas.

En la Tabla 4 presentamos las diversas especies de levaduras recuperadas en nuestra investigación, donde se evidencio que el género *Candida* prevalece sobre el resto de levaduras; además algo que también podemos destacar es que *C. albicans* es la especie mayoritaria, además en conjunto a la tabla 5 presentamos el número de cepas halladas en los diferentes periodos de muestreo, los cuales están separados por género hecho que es reportado por todos los autores que realizaron trabajos similares, por otra parte debemos destacar las diferentes especies de *Candida* no *albicans* emergentes hallados en nuestro estudio siendo estos importantes debido a su fácil diseminación en estos ambientes y/o la resistencia a antimicóticos que presentan.

En nuestro estudio, los microorganismos mayoritarios corresponden al género *Candida*, con sus diferentes especies, tal como se muestra en la Figura 3; y posteriormente tenemos los microorganismos de los géneros *Cryptococcus* y *Zygosacch spp.*, con un 1% de frecuencia, autores como Pemán señalan una frecuencia en *Candidas* de entre el 95% y 97% en los casos de infecciones fúngicas nosocomiales dejando el resto a otros microorganismos fúngicos, sin embargo Daniel Archimedes da Matta señala que la variabilidad en la frecuencia de infecciones nosocomiales por mohos y levaduras van acorde a las condiciones geográficas donde se llevan a cabo estos estudios, donde la presión, temperatura, humedad son factores clave en la frecuencia

(Pemán Javier, 2013), (Daniel Archimedes da Matta, 2017), razón por la que de hecho vemos un 99% en la frecuencia de levaduras en nuestros resultados, dado que el estudio se realizó a 4100mts sobre el nivel del mar, donde la temperatura promedio esta entre los 10-15°C y la humedad relativa es habitualmente baja.

Como se presenta en la **Tabla 5**, se observó que las poblaciones fúngicas presentes en los ambientes hospitalarios son diversas; encontrando como microorganismos mayoritarios a levaduras del género *Candida* de entre las cuales la *Candida albicans* representa el 44% del total de cepas recuperadas en ambos periodos de muestreo seguido por *Candida glabrata* con el 17,2% y *Candida tropicalis* con el 14,9%; ya Pemán Javier y Salavert Miquel en su artículo “Epidemiología y prevención de las infecciones nosocomiales causadas por especies de hongos filamentosos y levaduras” nos presenta un resultado similar, atribuyendo este autor su frecuencia principalmente a fuentes de tipo endógena (previa colonización de la piel o de las mucosas), aunque también puede transmitirse a través de material infectado, personal sanitario o a partir de otros pacientes (Pemán Javier, 2013), sin embargo, resultados hallados en otros estudios realizados en los países vecinos al nuestro, muestran en su mayoría 2 diferentes frecuencias de aislamientos con respecto al mayor número de cepas halladas, estando *C. albicans* seguida de *C. parapsilosis* y la otra *C. parapsilosis* seguida de *C. albicans*, esto mostrando una discrepancia evidente en nuestros resultados nos llevó a consultar la revisión de (Daniel Archimedes da Matta, 2017), el cual nos señala que la epidemiología por Candidemia varia con respecto a la geografía, sin embargo, las razones de esa distribución discrepante aún no están bien comprendidas. Ahí la importancia de establecer la fuente potencial de infección; pudiendo ser este origen el ambiente hospitalario, los equipos médicos o el personal de salud que se encuentra en permanente contacto con los pacientes, a los cuales nos referimos como cepas de origen “ambiental”; como vemos en

la **Tabla 3**, donde apreciamos un 85,8% de cepas aisladas de pacientes frente al 14,2% de las cepas encontradas en los distintos ambientes del Hospital Obrero #30 de las 134 cepas halladas, el primer periodo de muestreo nos muestra un mayor número de cepas aisladas siendo este de 82 frente a las 52 halladas en el segundo periodo de muestreo, por otra parte el segundo periodo se observó una mayor diversidad de microorganismos, no obstante encontramos una relación similar entre el primer y segundo periodo de muestreo, siendo este el número de cepas aisladas de los pacientes contra el número de cepas halladas como señalamos al principio, lo cual podemos interpolar con el consumo indiscriminado de antibacterianos citados en trabajos como el de (Navarrete-Mejia Pedro Javier, 2020) que pese a ser un trabajo de investigación en el vecino país del Perú, la adquisición y consumo de medicamentos sin previa consulta médica y por ende sin receta médica es equiparable a la realidad Boliviana. El alto consumo de antibacterianos destruye el equilibrio al nivel de la microbiota humana que en conjunto a la inmunodepresión al que lleva el contagio por SARS-Cov2 y/u otras comorbilidades incluso la propia histeria generada por el estrés y miedo a la situación Pandémica por la que atravesábamos, da paso a un aumento en el número de infecciones oportunistas como ser las infecciones fúngicas, en consecuencia y con más información sobre la situación Pandémica las instituciones públicas y personal de salud, con medidas de concientización dieron esquemas de tratamiento para la Covid19, por lo que podemos deducir tuvo un impacto para los tiempos del 2° periodo de muestreo, pues se contó con una menor cantidad de personas infectadas con estos microorganismos, sin embargo esto último es una deducción lógica en base al panorama del momento en el país, el cual no cuenta con evidencia científica.

La diversidad de cepas aisladas podemos observarla en la **Tabla 5**, donde vemos 13 cepas fúngicas de importancia medica de las cuales 11 pertenecen al género *Candida*, uno al género

Cryptococcus y uno al género *Zygosacch*, sin embargo, podemos observar que entre las cepas del género *Candida* hay mayor riqueza en las especies de *C. albicans*, seguido por *C. glabrata* y *C. tropicalis* secundada por trabajos como el de (M. T. Mjújica, 2004) (Laura Judith Marcos-Zambrano, 2013), salvo por *C. parapsilosis*, según Daniel Archimedes da Matta en su “Review” “Revisiting Species Distribution and Antifungal Susceptibility of *Candida* Bloodstream Isolates from Latin American Medical Centers” la epidemiología varía según la geografía, cuyas razones no están comprendidas aun; cabe mencionar que pese a la diversidad de países que entran en el estudio Bolivia no está entre ellos, los países estudiados muestran una similitud geográfica en relación a la altura y humedad (Daniel Archimedes da Matta, 2017) siendo esta una posible razón por la que *Candida parapsilosis* se encontró con menor frecuencia en nuestro estudio, la recurrencia en las otras especies de *Candida* concuerda con lo descrito en los trabajos mencionados, sin embargo encontramos preocupante la presencia de especies consideradas emergentes en el ambiente hospitalario como ser *C. dubliniensis*, *C. guilliermondii* y *C. lusitaniae*, el primero debido a su resistencia intrínseca al Fluconazol (Derek Sullivan, 1998) y los últimos 2 debido a presentar una probabilidad alta de mostrar resistencia in vitro a la anfotericina B y al fluconazol (Corrado Girmenia, 2006).

En la **Tabla 7** haciendo hincapié en las cepas halladas en los ambientes del hospital Obrero #30, organizando estas cepas, acorde al tipo de ambiente del cual procede, como ser; Salas de pacientes, Instrumentos médicos, ambulancias, personal médico además de la cocina y comedor para el personal que labora en el Hospital, esto para averiguar la posibilidad de que las cepas estén recirculando entre los ambientes, el personal y los pacientes, al observar los resultados podemos notar algo preocupante, y es que todas las cepas recuperadas tienen interés clínico, debido a su diseminación global, capacidad de disminuir su sensibilidad a los antimicóticos y/o cepas que son

consideradas emergentes en otros países alrededor del mundo, incluidos nuestros vecinos, esto sin tomar en cuenta que de la clasificación realizada la mayoría tiene contacto directo con los pacientes, por otra parte en base a la **Figura 4** nos damos cuenta que existe tanto mayor cantidad como mayor variedad de cepas en el primer periodo de muestreo, estando la mayoría de las cepas en las salas de pacientes (trípodes, barandas, camillas, cabeceras, veladores), tendencia que cambia en el segundo periodo de muestreo, donde este patrón de superioridad se traslada al instrumental médico (Estetoscopios, AMBUS, frascos de nebulización y otros) siendo un motivo de alarma para impulsar el control y aplicación de medidas correctivas y preventivas, dado que una infección de este tipo incrementa la morbi-mortalidad en los pacientes, según (Joshua Perloth, 2007) en su revisión “Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment” nos dice que hasta ese entonces el riesgo de incidencia de Candidiasis invasiva se incrementó 50 veces en los pacientes hospitalizados, siendo los neonatos los más afectados por este problema, además de un incremento en la tasa de mortalidad que se encuentra del 20 al 57% a pesar del tratamiento antifúngico, esto último según (Jesús Reséndiz-Sánchez, 2007). Todo lo expuesto con anterioridad demuestra la importancia de un mayor control en la limpieza y el manipuleo del equipo y material de trabajo en el Hospital.

Las **Tablas 6 y 8** muestran la distribución del número de cepas por especie además clasificado por periodo de muestreo, siendo que la primera tabla refiere al total de cepas aisladas y la segunda a las cepas aisladas de pacientes, que al compararlas con la **Tabla 7** nos muestran una tendencia de distribución dominada por las cepas aisladas de muestras de pacientes, pero el hecho de encontrar cepas en el ambiente hospitalario nos llevó a preguntarnos su relación y posible complicidad con la infección de los pacientes hospitalizados, debido a la recirculación de las cepas de forma “ambientes-personal de salud-pacientes”, ante esta posibilidad realizamos un estudio

poblacional tomando como factor de diferenciación las características fenotípicas que presentaba cada cepa, esto gracias a la capacidad de identificación del equipo VITEK-2® el cual fue capaz de realizar 46 pruebas diferentes para la identificación de cada cepa, resultados que nos permitieron familiarizar las diferentes cepas debido a sus similitudes fenotípicas lo cual podemos observar en la **Figura 4** fue posible agruparlos debido a que la capacidad fenotípica es un reflejo de las características genéticas de un organismo, esto nos permitió evidenciar la presencia de cepas diseminadas entre los pacientes (la relación del tipo de muestra con la cepa hallada se puede observar en la **Tabla 4**), como ser las cepas recuperadas en el primer periodo de muestreo TC092, TC083, TC043 y TC042 que son fenotípicamente similares a las recuperadas en el segundo periodo de muestreo como ser las cepas XC035, XC045, XC018, XC015, XC014 y XC013, este análisis nos permitió percatarnos de situaciones como las de las cepas XC048 y XS006 siendo que la primera fue encontrada en la muestra de un paciente y la segunda encontrada en el ambiente, este tipo de concordancia fue hallada en cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata* lo que nos permite inferir en la posible infección nosocomial de estas cepas a pacientes internados en el Hospital Obrero #30, además gracias a este estudio podemos denotar que las cepas de *C. glabrata* halladas en las muestras de ambientes TC030, TC034 Y XS48 aparentemente también fueron recirculando entre los pacientes, esto según los patrones fenotípicos hallados.

9. CONCLUSION

Mediante el aislamiento e identificación de los microorganismos presentes en los ambientes hospitalarios y en muestras clínicas, este estudio nos permitió evidenciar la presencia y recirculación de cepas fúngicas dentro el Hospital Obrero N°30 de la Caja Nacional de Salud de la ciudad de El Alto, detectando la presencia de cepas de importancia clínica por ser constantes en otros países según la bibliografía, o también cepas consideradas emergentes, ambos de gran interés clínico ya sea por su relación con el incremento de la morbi-mortalidad de los pacientes y/o por la resistencia intrínseca que poseen frente a los tratamientos antimicóticos.

Entre los microorganismos más frecuentes encontramos a los que pertenecen al género *Candida*, llegando a superar el 95% de los hallazgos, encontrando presencia de levaduras emergentes, como es el caso de *C. guilliermondii* hallada en pacientes y en entornos ambientales, así como el caso de un aislamiento de *C. krusei* de origen ambiental, misma que presenta un perfil de resistencia frente a diversos antimicóticos.

Cabe resaltar que la presencia de *C. albicans*, aún supera al resto de los mohos y levaduras aislados, con un porcentaje de 44%, sin embargo, nuestros resultados sugieren que para un futuro, esta frecuencia puede verse modificada, ya que las especies emergentes de *Candida* no *albicans* reportan presencia en los pacientes, así como en los ambientes nosocomiales, lo que puede en un futuro representar un peligro para los pacientes, ya que algunas de estas especies poseen resistencia intrínseca a los antifúngicos, y este hecho puede favorecer su selección en los entornos nosocomiales.

Finalmente, nuestros resultados también sugieren que algunas cepas de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. glabrata*, fueron aisladas tanto en diferentes ambientes hospitalarios, así como en los pacientes, sugiriendo una posible circulación de estas entre los dos entornos (ambientes

hospitalarios y pacientes); hecho que debe ser evaluado con procedimientos más resolutivos, como la secuenciación, para definir si se trata de clonas de una misma cepa.

10. RECOMENDACIONES

En base a los resultados obtenidos y dada la importancia del control de las infecciones y coinfecciones por mohos y levaduras de pacientes externos y/o hospitalizados, se recomienda un estudio completo de la resistencia que presentan estas levaduras, dado que, pese a ser un Hospital en “Estreno” se encontró una gran variabilidad de levaduras, entre ellas varias consideradas “emergentes”.

11. BIBLIOGRAFIA

- A. Gaudichon, P. A. (2022). Infecciones nosocomiales e infecciones asociadas a la atención sanitaria. *EMC - Tratado de Medicina*, 1-8.
- Ángel González, Á. M. (2006). Infecciones micóticas oportunistas en pacientes con VIH/SIDA. *Asociación Colombiana de Infectología*, 279-288.
- Alejandra Zamora, N. M. (2012). Análisis funcional de microorganismos: Un estimador de diversidad y estructura comunitaria. *Acta Biol. Venez*, 57-86.
- Alfredo A. Sánchez-Betancourt, P. S.-Á. (2017). Peritonitis terciaria por *Candida famata*: infección por una levadura atípica. *Unidad de Emergencias Quirúrgicas del Hospital México*, 35-37.
- Andrew M. Borman, E. M. (2021). Name Changes for Fungi of Medical Importance, 2018 to 2019. *American society for Microbiology*.
- Arenas, R. (2014). *Micología Medica Ilustrada*. Mexico: McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S. A. de C. V.
- Atlas, R. y. (2002). *Ecología microbiana y Microbiología Ambiental*. España: Addison Wesley.
- Calvo Belinda, M. L.-L. (2010). Cambios en la distribución de especies de *Candida* aisladas de hemocultivos, en pacientes del Servicio Autónomo Hospital Universitario de Maracaibo, Venezuela. *Kasmera*, 106-117.
- Carlos Andre Deza Morales, E. Z. (2020). *Estimación de los costos directos por infección urinaria intrahospitalaria en el servicio de Medicina interna del Hospital Regional*

- Lambayeque entre los años 2015-2018*. Chiclayo: Universidad Católica Santo Toribio de Mogrovejo.
- Carme Salvador García, N. T. (2020). Candida auris: descripción de un brote. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 39-44.
- Carmen Ezpeleta-Baquedano, J. L.-A.-I.-C. (2013). Control Microbiológico Ambiental. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica ELSEVIER*, 396-401.
- Carmina Lloret Sos, O. G. (2002). Candida Lusitaniae. *Control de Calidad SEIMC*, 1-6.
- Carolina Garcia-Vidal, G. S.-G.-A.-P.-P. (2020). Incidence of co-infections and superinfections in hospitalized patients with COVID-19: a retrospective cohort study. *CMI Clinical Microbiology and Infection*.
- Chen, S. C. (22 de January de 2011). *Echinocandin antifungal drugs in fungal infections: a comparison*. Obtenido de Pubmed: <https://doi.org/10.2165/11585270-000000000-00000>
- Corrado Girmenia, G. P. (2006). Candida guilliermondii Fungemia in Patients with Hematologic Malignancies. *American Society for Microbiology*, 2458-2464.
- Daniel Archimedes da Matta, A. C. (17 de Mayo de 2017). *Revisiting Species Distribution and Antifungal Susceptibility of Candida Bloodstream Isolates from Latin American Medical Centers*. Obtenido de MDPI.com: <https://doi.org/10.3390/jof3020024>
- Derek Sullivan, D. C. (1998). Candida dubliniensis: Characteristics and Identification. *American Society for Microbiology*, 329-334.
- Domínguez, D. D. (2020). *Caracterización Molecular de las especies de candida almacenadas en el laboratorio de Micología Clínica de la carrera de Bioquímica Clínica, Facultad de*

- Medicina de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador en la ciudad de Quito.*
Quito: Pontificia Uversidad Católica del Ecuador.
- Emilia Cantón Lacasa, E. M.-I. (2007). Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). *Asociación Española de Micología.*
- Estrella Martin-Mazuelos, A. V.-C. (2000). Criptococosis: Diagnostico microbiologico y estudio de la sensibilidad in vitro. *Control Calidad SEIMC.*
- Gary W. Procop, D. L. (2017). *Koneman, Diagnostico microbiologico.* Barcelona: Wolters Kluwer.
- Gaston., P. O. (2002). *Functional diversity (FD), species richness and community composition.* Ecology Letters.
- H. P. Rang, M. M. (2016). *Farmacología.* Barcelona-España: ELSEVIER.
- Jesús Reséndiz-Sánchez, J. J.-A. (2007). Factores asociados a mortalidad po fungemias causadas por Candida sp. en niños. *Departamento de Infectología, Hospital Infantil de México Federico Gómez,* 91-98.
- Josep M. Torres-Rodríguez, Y. M. (2000). Candida glabrata: UN PATÓGENO EMERGENTE. *Control Calidad SEIMC.*
- Joshua Perloth, B. C. (2007). Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis, and treatment. *Medical Mycology,* 321-346.
- Karina López-Ávila, K. R.-R.-C.-L.-C. (2016). Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en Candida albicans. Una revisión. *Rev. Biomed,* 127-136.

- Laura Judith Marcos-Zambrano, P. E. (2013). Aplicación de las técnicas de tipificación molecular al estudio de brotes hospitalarios de candidemia. *Revista Iberoamericana de Micología*, 97-103.
- Laura Judith Marcos-Zambrano, P. E. (2013). Aplicación de las técnicas de tipificación molecular al estudio de brotes hospitalarios de candidemia. *Revista Iberoamericana de Micología*, 97-103.
- Laura Sante, M. L. (2019). Factores de riesgo en bacteriemias nosocomiales secundarias a ITU en un hospital terciario. *Official Journal of the Spanish Society of Chemotherapy*, 311-316.
- Liliana Scorzoni, A. C.-O.-G.-A. (2017). Antifungal Therapy: New Advances in the Understanding and Treatment of Mycosis. *FRONTIERS*, 1-23.
- López-Cerero, L. (2013). Papel del ambiente hospitalario y los equipamientos en la transmisión de las infecciones nosocomiales. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*.
- M. T. Mjujica, J. L. (2004). Prevalencia de *Candida albicans* y *Candida no albicans* en diferentes muestras clínicas. Periodo 1999-2001. *Rev. Argent. microbiol.*, 107-112.
- M. V. Pinoni, V. C. (2007). Características fenotípicas útiles para la identificación presuntiva de *Candida guilliermondii*. *Revista Argentina de Microbiología*, 81-83.
- María José Linares Sicilia, F. S. (2007). Identificación de levaduras. En E. M.-M. J Pemán, *Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica* (págs. 11.1-11.5). Bilbao: Asociación Española de Micología.

- Mazuelos, C. C. (2004). Diagnostico de la Infección Fúngica por Levaduras del Género Candida: Candida dublinensis. *Control de Calidad SEIMC*, 1-10.
- Medina Z., S. B. (2001). Resistencia termica de levaduras en jugo de naranja a diferentes concentraciones de solidos solubles. *Alan 51*, 167-172.
- Mejías-Martín, T., Pupo-Rodríguez, H., Tamayo-Ortiz, A. N., & de Armas-Guerra, D. (2013). Infección Sistémica Nosocomial por Especies del Género Candida en una Unidad de Cuidados. *Ciencias Holguin*, 1-15.
- Navarrete-Mejia Pedro Javier, V.-G. J.-C. (2020). Automedicación en época de pandemia: Covid-19. *Cuerpo méd. HNAAA 13*, 350-355.
- Nicolás D. Beyda, S. H. (2013). Treatment of Candida famata bloodstream infections: case series and review of the literature. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 438-443.
- Palop A., A. I. (2000). Heat resistance of Alicyclobacillus acidocaldarius in water, various buffers, and orange juice. *Journal of Food Protection 10*, 1377-1380.
- Pedro Carrillo-Dover, C. Á.-V.-C.-B. (2009). Aislamiento de Candida spp. y otras levaduras en el personal que labora en áreas críticas del Hospital San Jua de Dios. *Acta Médica Costarricense*, 165-171.
- Pedro Carrillo-Dover, C. Á.-V.-C.-B. (2009). *Aislamiento de Candida spp. y otrs levaduras en el personal que labora en áreas críticas del Hospital San Jua de Dios*. Costa Rica: Acta medica Costarricense .
- Pedro García-Martos, J. R.-A.-A. (2004). Aislamiento de Candida ciferrii en un paciente inmunodeficiente. *Revista Iberoamericana de Micología*, 85-86.

- Pemán Javier, S. M. (2013). Epidemiología y prevención de las infecciones nosocomiales causadas por especies de hongos filamentosos y levaduras. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clínica*, 328-341.
- Rogelio de J. Treviño-Rangel, J. G.-G.-G. (2012). Candida parapsilosis, una amenaza desafiante. *Medicina Universitaria*, 155-163.
- Ruiz, L. M. (2020). Incidencia y actuación de enfermería sobre las infecciones nosocomiales en las unidades de cuidados intensivos. *NPunto*, 4-31.
- Salvador Gómez, S. M. (2011). Análisis del perfil proteico de aislamientos clínicos de Candida guilliermondii sensibles y resistentes al fluconazol. *Asociación Colombiana de Infectología*, 20-24.
- Sara Irene Morales Guevara, V. Y. (2020). “Factores que influyen en las infecciones intrahospitalarias de los pacientes postquirúrgicos de cirugía de cadera en el Hospital de Especialidades Fuerzas Armadas N° 1 en el periodo Octubre 2019 – Marzo 2020. Ecuador: Universidad Técnica de Babahoyo.
- Sara Irene Morales Guevara, V. Y. (2020). “Factores que influyen en las infecciones intrahospitalarias de los pacientes postquirúrgicos de cirugía de cadera en el Hospital de Especialidades Fuerzas Armadas N° 1 en el periodo Octubre 2019 – Marzo 2020. Ecuador: Universidad Técnica de Babahoyo.
- Sauceda, E. N. (2011). Uso de agentes antimicrobianos naturales en la conservación de frutas y hortalizas. *Ra Ximhai*, 153-170.

- Scott K. Fridkin, M. S. (1997). MAGNITUDE AND PREVENTION OF NOSOCOMIAL INFECTIONS IN THE INTENSIVE CARE UNIT. *From the Division of Infectious Diseases, Cook County Hospital, and Rush Medical College, Chicago, Illinois*, 479-496.
- Yotsabeth Saúl García, R. H. (2014). Aislamiento de *Candida* spp. en ambiente y personal que labora en una unidad de cuidados intensivos. *Revista de la sociedad Venezolana de Microbiología*, 27-32.
- Zuluaga-Rodríguez. (2020). *Candida auris*: estrategias y retos para prevenir un brote. *Biomedica*, 5-10.

12. ANEXOS

Tabla 9 Procedencia de las muestras y cepas halladas en ambos periodos de muestreo

Muestras y cepas halladas en el Hospital Obrero N°30					
Primer periodo			Segundo periodo		
Tipo de muestra	Cepa	Código	Tipo de muestra	Cepa	Código
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC001	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC003
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC002	Paciente	<i>C. parapsilosis</i>	XC004
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC003	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC005
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC004	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC006
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC005	Paciente	<i>C. tropicalis</i>	XC007
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC006	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC008
Paciente	<i>C. krusei</i>	TC007	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC009
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC008	Paciente	<i>C. lusitaniae</i>	XC010
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC009	Paciente	<i>C. glabrata</i>	XC011
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC010	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC012
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC011	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC013
Paciente	<i>C. lusitaniae</i>	TC012	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC014
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC013	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC015
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC014	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC017
Paciente	<i>C. krusei</i>	TC015	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC018
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC016	Paciente	<i>C. dubliniensis</i>	XC019
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC017	Paciente	<i>C. krusei</i>	XC020
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC018	Paciente	<i>C. dubliniensis</i>	XC021
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC019	Paciente	<i>C. lusitaniae</i>	XC022
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC020	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC023
Paciente	<i>Zygosacch spp.</i>	TC021	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC024
Tripode suero	<i>C. tropicalis</i>	TC022	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC025
Meson comedor	<i>C. krusei</i>	TC023	Paciente	<i>C. lusitaniae</i>	XC026
Frasco cocina	<i>C. lusitaniae</i>	TC024	Paciente	<i>Cryptococcus laurentii</i>	XC027
Panel de control constantes vitales	<i>C. guillermondii</i>	TC025	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC028
Tripode C112	<i>C. krusei</i>	TC026	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC029
Monitor constantes pacillo	<i>C. guillermondii</i>	TC027	Paciente	<i>C. lusitaniae</i>	XC030
Meson comidas	<i>C. krusei</i>	TC028	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC032
Panel de control constantes vitales	<i>C. glabrata</i>	TC029	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC033
Baranda de cama	<i>C. glabrata</i>	TC030	Paciente	<i>C. glabrata</i>	XC034

Baranda de cama	<i>C. intermedia</i>	TC031	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC035
Estetoscopio	<i>C. albicans</i>	TC032	Paciente	<i>C. glabrata</i>	XC036
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC033	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC037
Oxímetro	<i>C. glabrata</i>	TC034	Paciente	<i>C. ciferrii</i>	XC038
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC035	Paciente	<i>C. tropicalis</i>	XC039
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC036	Paciente	<i>C. tropicalis</i>	XC040
Paciente	<i>C. lusitaniae</i>	TC037	Paciente	<i>C. famata</i>	XC041
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC038	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC042
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC039	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC043
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC040	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC044
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC041	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC045
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC042	Paciente	<i>C. guilliermondii</i>	XC046
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC043	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC047
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC044	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC048
Paciente	<i>C. dubliniensis</i>	TC045	Paciente	<i>C. albicans</i>	XC049
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC046	Paciente	<i>C. dubliniensis</i>	XC050
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC047	Camara de AMBU	<i>C. albicans</i>	XS006
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC048	Tubo de frasco de aspiracion	<i>C. tropicalis</i>	XS009
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC049	Mano derecha Lic	<i>C. glabrata</i>	XS018
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC051	Liquido de sonde de aspiracion	<i>Cryptococcus laurentii</i>	XS032
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC052	Esponja UCI	<i>C. glabrata</i>	XS048
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC053	Panel de constantes vitales	<i>C. krusei</i>	XS138
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC054			
Paciente	<i>C. dubliniensis</i>	TC055			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC056			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC057			
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC058			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC059			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC060			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC061			
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC062			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC068			
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC069			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC070			
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC071			
Paciente	<i>C. dubliniensis</i>	TC072			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC073			
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC074			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC075			
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC076			

Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC077			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC079			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC081			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC082			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC083			
Paciente	<i>C. dubliniensis</i>	TC085			
Paciente	<i>C. tropicalis</i>	TC087			
Paciente	<i>C. albicans</i>	TC088			
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC089			
Paciente	<i>C. dubliniensis</i>	TC090			
Paciente	<i>C. glabrata</i>	TC091			
Tripode C124	<i>C. albicans</i>	TC092			