

INSTITUTO DE MEDICINA TROPICAL PEDRO KOURÍ (IPK)
LAZPRIMT GRUPO MÉDICO S.A., PUEBLA, MÉXICO

Susceptibilidad a la nistatina de aislamientos bucales de *Candida* y su correlación con la respuesta al tratamiento

Luz Marina Prieto Santa Anna,¹ Luis Alberto Díaz Suárez,² María Teresa Illnait Zaragoza,³ Mayda Rosa Perurena Lancha,⁴ Nereyda Cantelar de Francisco,⁵ Carlos Manuel Fernández Andreu⁶ y Gerardo Martínez Machín⁷

RESUMEN

INTRODUCCIÓN: la candidiasis bucofaringea es un marcador precoz de progresión a sida en los pacientes seropositivos al VIH sin tratamiento antirretroviral, así como un indicador de no adherencia al tratamiento antirretroviral o su posible fracaso. **OBJETIVO:** determinar la susceptibilidad frente a nistatina de las cepas de *Candida* aisladas de la cavidad bucal de pacientes seropositivos al VIH, y correlacionar los resultados con la respuesta al tratamiento. **MÉTODOS:** se realizó un estudio de susceptibilidad *in vitro* frente a nistatina para 104 cepas aisladas de lesiones de candidiasis bucofaringea de 97 pacientes VIH/sida que habían participado, como voluntarios, en un ensayo clínico para evaluar la respuesta a cuatro drogas. De los 104 aislamientos, 58 fueron obtenidos antes de iniciar los esquemas de tratamientos y 46 una vez finalizado estos. Se procedió según el micrométodo el documento M27-A3 del *Clinical and Laboratory Standards Institute*. **RESULTADOS:** todas las cepas se comportaron como sensibles a la nistatina, con valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) menores que 16 µg/mL, independientemente del momento de su aislamiento y de la droga administrada a los pacientes. En el grupo de pacientes tratados con nistatina, los rangos de CMI₈₀ (1-2 µg/mL), las medias geométricas y los valores acumulativos de la droga frente a los aislamientos de *Candida albicans* obtenidos antes de iniciar el tratamiento, resultaron similares a los obtenidos frente a las cepas recobradas al finalizar este. De todas las especies identificadas, *C. lusitanae* fue la que alcanzó el valor absoluto de CMI más elevado, 4 µg/mL. **CONCLUSIONES:** la correlación entre la evolución clínica de los pacientes y los resultados de los estudios de susceptibilidad de sus aislamientos *in vitro*, fue buena para los pacientes con evolución favorable, pero no para predecir posibles fracasos terapéuticos.

Palabras clave: candidiasis bucal, VIH, sida, nistatina, uso terapéutico, susceptibilidad *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

La relación entre la candidiasis bucal y el síndrome de inmunodeficiencia adquirida es tal, que esa afección se considera un importante marcador de progresión de la infección viral, así como un

indicador de posible fracaso o de no adherencia a la terapia antirretroviral. Se ha demostrado que los pacientes seropositivos al virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) que padecen de candidiasis bucofaringea, tienen 2,5 veces más riesgo de progresar a sida que aquellos que persisten asintomáticos.¹

¹ Máster en Medicina Tropical. Doctora en Ciencias Médicas. LAZPRIMT Grupo Médico S.A. Puebla, México.

² Máster en Bacteriología-Micología. Licenciado en Microbiología. Escuela Latinoamericana de Medicina. Ciudad de La Habana, Cuba.

³ Máster en Bacteriología-Micología. Especialista de II Grado en Microbiología. Investigador Auxiliar. Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" (IPK). Ciudad de La Habana, Cuba.

⁴ Máster en Bacteriología-Micología. Licenciada en Microbiología. Investigador Agregado, IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

⁵ Doctora en Ciencias Médicas. Especialista de II Grado en Microbiología. Investigadora Titular. Profesora Titular. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

⁶ Doctor en Ciencias de la Salud. Investigador Titular. Profesor Titular. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

⁷ Especialista de II Grado en Microbiología. Investigador Auxiliar. Profesor Auxiliar. IPK. Ciudad de La Habana, Cuba.

La introducción de la terapia antirretroviral en los pacientes VIH/sida ha traído como consecuencia una disminución progresiva de las enfermedades oportunistas. No obstante, el elevado número de pacientes sin posibilidades de acceder a esos tratamientos, en particular en países de bajos recursos que son los que concentran el mayor número de casos, unido a la aparición de resistencia a las drogas antivirales y a un diagnóstico tardío de la enfermedad de base, son aspectos que contribuyen a que las infecciones oportunistas en general y la candidiasis bucofaringea en particular, persistan como un problema importante de salud en esta población.^{2,3}

Con la progresión de la enfermedad de base se incrementan considerablemente la recurrencia y la recidiva de los episodios de candidiasis bucofaringea, lo que obliga a la administración reiterada de antifúngicos e incluso, en ocasiones, a su prescripción profiláctica. Esa utilización frecuente e inevitable de los antifúngicos, con el riesgo de aparición de cepas resistentes y de episodios clínicos refractarios a los tratamientos que genera, son un estímulo al desarrollo de estudios locales que permitan conocer la capacidad de resolución de los episodios clínicos de las drogas disponibles, así como la tendencia de la susceptibilidad de los microorganismos a estas.⁴

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar el patrón de susceptibilidad *in vitro* frente a nistatina de las cepas de *Candida* aisladas de lesiones de la cavidad bucal de pacientes seropositivos al VIH, y correlacionar los resultados con la respuesta al tratamiento administrado.

MÉTODOS

Cepas estudiadas: se estudiaron 104 aislamientos de *Candida* previamente obtenidos

mediante exudados micológicos de la cavidad bucal de 97 pacientes VIH/sida en el estado de Puebla, México. Estos pacientes habían sido distribuidos de manera aleatoria en un ensayo clínico para evaluar 4 esquemas de tratamiento: 2 tópicos (nistatina y clotrimazol) y 2 sistémicos (itraconazol y ketoconazol). Las cepas se encontraban conservadas en agua destilada estéril a temperatura ambiente y habían sido identificadas hasta especie según la metodología convencional.⁵ Como control, se utilizó la cepa de referencia *Candida albicans* ATCC 90028.

Para la determinación de la susceptibilidad *in vitro* a la nistatina, se definieron dos grupos de cepas:

El primero (pretratamiento) quedó conformado por 58 de los 97 aislamientos obtenidos antes de iniciar los esquemas de tratamiento antes mencionados. Para su integración, se seleccionaron las 24 cepas recuperadas de los pacientes que más tarde serían tratados con nistatina y subgrupos de 15, 10 y 9 cepas aisladas de los pacientes en los que se evaluarían los tratamientos con itraconazol, ketoconazol y clotrimazol, respectivamente. Las cepas que integraron estos 3 subgrupos fueron los aislamientos iniciales de los pacientes en los que no se logró erradicar el microorganismo al terminar sus esquemas de tratamiento (ver grupo posttratamiento).

El segundo grupo (postratamiento) estuvo conformado por las 46 cepas obtenidas de los pacientes en los que el cultivo micológico fue positivo al finalizar los esquemas de tratamiento y se distribuyeron de la manera siguiente: 12 aislamientos del grupo de pacientes tratados con nistatina y 15, 10 y 9 cepas de los pacientes incluidos en los esquemas con itraconazol, ketoconazol y clotrimazol, respectivamente.

La tabla 1 permite una mejor comprensión de la procedencia de las cepas que constituyeron el universo de estudio.

TABLA 1. Procedencia de las cepas

Grupo de estudio	Aislamientos incluidos según esquema de tratamiento				Total
	nistatina	itraconazol	ketoconazol	clotrimazol	
Pretratamiento	24	15	10	9	58
Postratamiento	12	15	10	9	46
Total	36	30	20	18	104

Determinación de la concentración mínima inhibitoria a la nistatina

Se realizó el micrométodo según el documento M27-A3 del *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI)*.⁶

Preparación de la solución madre del antifúngico: se preparó un solución madre de nistatina (SIGMA N 6261) con una potencia al 100 % para obtener una concentración de 1 600 µg/mL (100 veces superior a la concentración más alta del antifúngico a ensayar). Como disolvente se utilizó dimetilsulfóxido (DMSO). Se repartieron alícuotas de trabajo en viales estériles y se congelaron a - 70 °C hasta su utilización.

Preparación de las diluciones del antifúngico en las placas: se dispensó el medio de cultivo RPMI 1640 a razón de 200 µL/pozo en la duodécima columna y 100 µL/pozo de la segunda a la onena. Posteriormente se añadieron 100 µL/pozo de la solución del antifúngico diluido 1:50 en el mismo medio de cultivo en las columnas 1 y 2. A partir de esta última, se realizaron diluciones seriadas al doble hasta la columna 10, se descartaron 100 µL al final del procedimiento. De esta forma se obtuvo un gradiente de concentración desde la columna 1 a la 10, de 32 µg/mL hasta 0,06 µg/mL. Las placas así preparadas fueron debidamente rotuladas y almacenadas a - 70 °C hasta el momento de su utilización.

Preparación del inóculo: todas las cepas fueron transferidas a tubos de agar glucosado de Sabouraud con cloranfenicol e incubadas a temperatura ambiente durante 48-72 h.

Posteriormente, se utilizaron subcultivos de 24 h para preparar suspensiones en 5 mL de solución salina estéril (NaCl 0,85 %), equivalentes en turbidez al tubo 0,5 de la escala de McFarland. El inóculo obtenido fue corroborado mediante conteo en cámara de Neubauer ($1-5 \times 10^6$ células/mL) y la solución de trabajo final se obtuvo mediante dilución 1:1000 de la suspensión preparada en RPMI 1640.

Inoculación de las placas: una vez descongeladas y atemperadas, las placas fueron inoculadas con 100 µL/pozo de las suspensiones celulares previamente preparadas desde la columna 1 a la 11 (control de crecimiento). Cada cepa de estudio

se aplicó por duplicado, destinando las filas A y B a la cepa control.

Incubación: las placas fueron selladas con sus tapas, rotuladas, colocadas en cámara húmeda e incubadas en la oscuridad a 35 °C durante 48 h.

Lectura e interpretación de los resultados: se realizó la lectura visual de las placas con la ayuda de un visor de aumento y se definió como concentración mínima inhibitoria (CMI) a la concentración más baja del antifúngico que produjo inhibición total del crecimiento de la levadura, al compararla con el control de crecimiento. Al no existir criterios de resistencia y sensibilidad aprobados por el CLSI para *Candida* frente a nistatina, se adoptaron los propuestos por *Kuriyama* y otros, según los cuales una cepa es resistente cuando su crecimiento no es inhibido por una concentración de la droga mayor o igual que 16 µg/mL, y sensible cuando crece a concentraciones inferiores a 16 µg/mL.⁷

Análisis estadístico: utilizando el programa estadístico STATGRAPHICS plus versión 2.1 se establecieron los rangos de sensibilidad y media geométrica (MG) de los valores obtenidos. También fueron determinados los porcentajes acumulativos de las CMI frente a las diferentes concentraciones de nistatina.

RESULTADOS

En la tabla 2 se presentan los rangos y la MG de la CMI de nistatina frente a los dos grupos de cepas definidos para este estudio. Los resultados se desglosan atendiendo a las especies de *Candida* identificadas. Los rangos de CMI para las cepas de *Candida albicans* fueron similares (0,5-2 µg/mL) para ambos grupos, así como los valores de las MG correspondientes. Para el total de las cepas el rango de CMI fue de 0,5-4 µg/mL y entre todas las especies identificadas, *Candida lusitanae* mostró el mayor valor absoluto de CMI de nistatina para un aislamiento (4 µg/mL).

En la figura se muestra la distribución de los valores de CMI de nistatina frente a *Candida albicans* y la cantidad de cepas inhibidas con los porcentajes acumulativos que estas representan. El valor de CMI₈₀ fue de 1 µg/mL para las cepas aisladas antes de iniciar tratamiento y de 2 µg/mL en las obtenidas al finalizar estos.

TABLA 2. Distribución de los rangos y medias geométricas (MG) de la concentración mínima inhibitoria (CMI) ($\mu\text{g/mL}$) de nistatina frente a las especies de *Candida* en ambos grupos de cepas en estudio.

Grupos de estudio	Especies aisladas (n)	Nistatina (CMI)	
		Rango* ($\mu\text{g/mL}$)	MG ($\mu\text{g/mL}$)
Pretratamientos	<i>C. albicans</i> (56)	0,5-2	1,196
	<i>Candida</i> spp. (2)	1	1
Postratamientos	<i>C. albicans</i> (42)	0,5-2	1,389
	<i>C. famata</i> (1)	2	-
	<i>C. guilliermondii</i> (1)	1	-
	<i>C. lusitaniae</i> (1)	4	-

TABLA 3. Distribución de los rangos y medias geométricas (MG) de la concentración mínima inhibitoria (CMI) ($\mu\text{g/mL}$) de nistatina frente a las especies de *Candida* aisladas de pacientes tratados con azoles

Especies	Pretratamiento (n= 34)		Postratamiento (n= 34)	
	Rango ($\mu\text{g/mL}$)	MG ($\mu\text{g/mL}$)	Rango ($\mu\text{g/mL}$)	MG ($\mu\text{g/mL}$)
<i>C. albicans</i>	1-2	1,213	0,5-2	1,254
<i>C. famata</i>	-	-	2	-
<i>C. guilliermondii</i>	-	-	1	-
<i>C. lusitaniae</i>	-	-	4	-
<i>C. parapsilosis</i>	-	-	1	-
<i>Candida</i> spp.	-	1	-	-

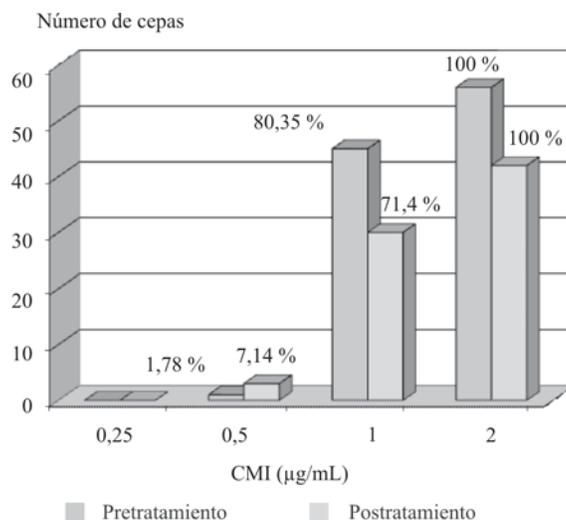


Fig. Distribución de los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) ($\mu\text{g/mL}$) de nistatina frente a *C. albicans* y cantidad de cepas inhibidas, con sus porcentajes acumulativos, en ambos grupos de estudio.

En la tabla 3 se presentan los rangos y MG de la CMI de nistatina frente a los aislamientos de *C. albicans*, obtenidos de los pacientes tratados con otras drogas y que no alcanzaron la cura micológica, así como los valores absolutos de CMI para las especies con un solo aislamiento. Los

rangos son muy similares para *C. albicans* en el grupo pretratamiento (1-2 $\mu\text{g/mL}$) y en el postratamiento (0,5-2 $\mu\text{g/mL}$) y lo mismo sucede con las MG, a su vez, los valores de CMI₈₀ fueron idénticos (2 $\mu\text{g/mL}$). Para el resto de las especies, con la sola excepción de *C. lusitaniae*, los valores de

TABLA 4. Distribución de los rangos y medias geométricas (MG) de la concentración mínima inhibitoria (CMI) ($\mu\text{g/mL}$) de nistatina frente a las cepas de *Candida* aisladas de los pacientes tratados con este antifúngico

Especies	Pretratamiento (n= 24)					
	Pacientes con cura micológica n= 12		Pacientes sin cura micológica n=12		Postratamiento n=12	
	Rango ($\mu\text{g/mL}$)	MG ($\mu\text{g/mL}$)	Rango ($\mu\text{g/mL}$)	MG ($\mu\text{g/mL}$)	Rango ($\mu\text{g/mL}$)	MG ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Candida albicans</i>	1-2	1,166	1-2	1,146	0,5-2	1,118
<i>Candida</i> spp.	-	1	-	-	-	-

CMI también se encontraron en los rangos mencionados.

En la tabla 4 se muestran los rangos de CMI y el valor de las MG de nistatina frente a todos los aislamientos obtenidos de los 24 pacientes que fueron tratados con esa droga, distribuidos según el momento del aislamiento (pretratamiento y postratamiento). Los aislamientos pretratamiento fueron a su vez subdivididos según procedieran de pacientes que alcanzaron o no la cura micológica. Como se puede observar, todas esas cepas fueron identificadas como *C. albicans*, excepto una *Candida* sp. obtenida de un paciente que curó. Los rangos de CMI fueron muy parecidos en los 3 grupos y se obtuvieron valores similares de MG. El valor de la CMI₈₀ fue de 1 $\mu\text{g/mL}$ para los aislamientos iniciales y de 2 $\mu\text{g/mL}$ para los recuperados al finalizar el tratamiento.

DISCUSIÓN

El gran número de cepas de *Candida albicans* (56 de 58) entre los aislamientos pre-tratamiento, seleccionados como muestra para este estudio, así como entre las cepas obtenidas postratamiento (tabla 1) fue el reflejo de la elevada prevalencia de esa especie como agente etiológico de los cuadros de candidiasis bucofaringea en la población estudiada.⁵

Un análisis de conjunto de los resultados obtenidos en los estudios de susceptibilidad *in vitro* realizados permite destacar los aspectos siguientes:

Según el criterio de cepa resistente adoptado para este trabajo (crecimiento a una concentración igual a 16 $\mu\text{g/mL}$), todas las cepas estudiadas, independientemente de la especie o el momento

de su aislamiento se definieron como sensibles a la nistatina (tabla 1) y el 100% de las cepas de *C. albicans* fue inhibido por una concentración de 2 $\mu\text{g/mL}$ de la droga (Fig.).

La resistencia cruzada entre azoles ha sido ampliamente abordada en la literatura médica y puede ser inducida tras cortos períodos de tratamiento.^{8,9} Aunque se reporta con menor frecuencia, se ha documentado que la exposición a los azoles induce resistencia a la anfotericina B, que es un antifúngico del mismo grupo que la nistatina (polienos), por lo que lo anterior pudiera cumplirse también para esta droga y explicar fallos terapéuticos.¹⁰ Sin embargo, en los pacientes que fueron tratados con drogas diferentes de nistatina (azoles) y que no alcanzaron cura micológica, la exposición de las cepas a esos medicamentos durante el tratamiento, no indujo modificaciones detectables en sus patrones de susceptibilidad para la nistatina. Lo anterior se puede inferir porque, como se observa en la tabla 2, frente a *C. albicans*, tanto para los aislamientos iniciales como para los postratamientos, los rangos de CMI y la MG de sus valores fueron similares y porque la CMI₈₀ para ambos grupos fue la misma (2 $\mu\text{g/mL}$).

De las otras especies, *Candida lusitanae* mostró el mayor valor absoluto de CMI de nistatina para una cepa (4 $\mu\text{g/mL}$). Aunque ese valor no es expresión de resistencia, es oportuno destacar que entre 5 y 20 % de los aislamientos de esa especie son resistentes a la anfotericina B.¹¹

Al analizar el comportamiento de las cepas obtenidas de los pacientes que recibieron tratamiento con nistatina es de destacar que para todos los aislamientos iniciales (pre-tratamiento), independientemente de que procedieran del grupo de pacientes que alcanzaron cura micológica o no, los

rangos de CMI y MG fueron similares (tabla 3). Lo mismo sucedió al comparar los aislamientos obtenidos antes y después del tratamiento de los pacientes que no alcanzaron la cura micológica, por lo que se puede sugerir que la no erradicación de esas cepas con el tratamiento no es expresión de resistencia a la nistatina. Se ha demostrado que las cepas de *Candida* que colonizan la cavidad bucal de los pacientes seropositivos al VIH pueden incrementar progresivamente su cuantía, hasta alcanzar niveles que hacen manifiesto el cuadro clínico de candidiasis bucal y que, aun después de un tratamiento que erradique todos los síntomas y signos de la enfermedad, pueden permanecer en cuantía detectable mediante cultivo micológico. Por consiguiente, un cultivo positivo después de un tratamiento, no significa necesariamente fracaso terapéutico.¹²

Resultados muy similares a los de este trabajo fueron reportados por *Kuriyama* y otros en 2005, en un estudio realizado en Inglaterra en el que evaluaron la susceptibilidad *in vitro* de 618 aislamientos de diferentes especies de *Candida*, incluidas 362 obtenidas de episodios de candidiasis bucal, a los 7 antifúngicos más utilizados mediante la metodología del CLSI. Ellos encontraron que la totalidad de los aislamientos resultaron sensibles a nistatina y que los valores de CMI₉₀ fueron de 1 mg/mL para *C. albicans*, *C. tropicalis* y *Candida* spp. y de 2 mg/mL para las especies de *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. parapsilosis*.⁷

Otro estudio desarrollado en Sudáfrica en 554 aislamientos de levaduras (330 procedentes de la cavidad bucal de pacientes VIH/sida) que utiliza la metodología del CLSI reporta que todos los aislamientos fueron sensibles a nistatina pero obtuvieron rangos de CMI de la droga más elevados que los reportados en este trabajo (4-8 µg/mL). Estas diferencias pudieran, al menos en parte, estar determinadas por las políticas de utilización del medicamento en diferentes regiones.¹³

En el Laboratorio de Micología del IPK también se han desarrollado trabajos previos en los que se ha evaluado la susceptibilidad *in vitro* de diferentes especies de *Candida* a nistatina mediante un micrométodo, similar al utilizado en este trabajo, pero con la diferencia de que el medio de cultivo empleado no fue el RPMI 1640. En dos de esos estudios las cepas fueron obtenidas mediante

exudados vaginales y las CMI₉₀ de nistatina para los aislamientos de *Candida albicans* fueron de 2 y 4 µg/mL, con rangos respectivos de 0,125-4 µg/mL y 0,5-8 µg/mL. En general, los resultados de estos trabajos son muy similares a los reportados en este estudio. Todas las cepas resultaron ser sensibles a la nistatina, y las pequeñas diferencias en rangos pudieran estar asociadas a múltiples factores entre los que se pudieran destacar el uso de un medio de cultivo diferente, el sitio de procedencia de las cepas y las diferencias entre las poblaciones objeto de estudio.^{14,15}

Por último, es interesante comentar algunos aspectos de la correlación entre la respuesta clínica, los cultivos micológicos y los resultados de las pruebas de susceptibilidad *in vitro* de las cepas recuperadas de los 24 pacientes tratados con nistatina. Según los resultados de los estudios clínicos y micológicos, 21 de los 24 pacientes (87,5 %) evolucionaron favorablemente con el tratamiento y 12 (50 %) lograron la cura micológica. Por consiguiente, 9 pacientes (42,8 %) que evolucionaron favorablemente mantuvieron cultivos positivos al finalizar el tratamiento. Los otros 3 pacientes (12,5 %) no lograron mejoría clínica ni cura micológica, por lo que se pueden considerar como fracaso terapéutico.⁵

El concepto de cura clínica es controvertido, pero la mayoría de los autores incluyen en ese análisis a todos los pacientes con evolución favorable a una droga dada (cura total + mejoría), por lo que se puede decir que en este estudio 87,5 % de los pacientes obtuvieron cura clínica. Discrepancias entre los resultados de cura clínica y micológica se han reportado para la totalidad de las drogas utilizadas en el tratamiento de la candidiasis bucal. En estudios recientes en enfermos con sida y candidiasis bucofaríngea, el itraconazol tuvo una actividad micológica similar al fluconazol (35 %) y la respuesta clínica fue del 90 % para ambos.^{16,17}

En los 3 casos considerados como fracaso terapéutico en este estudio, los aislamientos obtenidos, tanto al inicio como al final del tratamiento, fueron sensibles a la nistatina en las pruebas de susceptibilidad *in vitro*, pero los fracasos terapéuticos no tienen que estar necesariamente asociados a la presencia de cepas resistentes. Son múltiples las causas que pueden explicarlos y entre ellas destacan: pacientes que no realizan

adecuadamente los tratamientos impuestos, absorción inadecuada del medicamento, interacción con otras drogas y, finalmente, factores asociados al hospedero, entre los que sobresale el grado de inmunosupresión.¹⁸ En el presente estudio la primera posibilidad no es descartable, la absorción inadecuada es poco probable puesto que se trata de un tratamiento tópico, y sí es posible descartar la interacción con otros medicamentos, porque estos pacientes no recibían otras drogas en el momento del estudio.

En lo referente al grado o intensidad de la inmunosupresión, no es posible establecer una correlación exacta porque los pacientes no tenían estudios de conteo de linfocitos T CD4+, aunque atendiendo a que los 3 casos habían padecido episodios de candidiasis previos, se puede asumir que la enfermedad de base se encontraba en un estado avanzado, lo que se refuerza al conocer que no recibían tratamientos antirretrovirales.

Otro aspecto a analizar es la posibilidad de que las pruebas de susceptibilidad *in vitro* para nistatina no discriminen adecuadamente entre las cepas sensibles y las resistentes. La metodología propuesta por el CLSI y adoptada en este trabajo es la más aceptada internacionalmente, como método de referencia para los estudios de susceptibilidad *in vitro* a los antifúngicos. Hay estudios que confirman que es tan útil como los estudios de sensibilidad *in vitro* a antibacterianos para predecir susceptibilidad clínica y superior a estos para predecir fracaso terapéutico a los azoles.¹⁹ Sin embargo, en el caso de los polienos, se reconoce que su capacidad para detectar aislamientos resistentes es limitada.²⁰ Nevabi y otros, en 1998 reportaron resultados similares a los de este estudio en cuanto a que todos los aislamientos fueron sensibles a nistatina, a pesar de existir fracasos terapéuticos.²¹

La nistatina mantiene gran vigencia como droga a utilizar ante episodios de candidiasis bucal en el desarrollo de la infección por el VIH y casos con sida.²² Las pruebas de susceptibilidad *in vitro* han demostrado tener gran utilidad para estudios epidemiológicos, de vigilancia de los patrones de susceptibilidad en poblaciones de microorganismos a determinados antimicrobianos, así como para el descubrimiento de nuevos fármacos y también predecir posibles fracasos terapéuticos en la práctica

médica.²³ Por lo anterior, es de vital importancia continuar desarrollando trabajos de investigación que permitan optimizar la correlación de los resultados *in vitro* con la respuesta *in vivo*, para aquellas drogas en las que aún no se disponen de procedimientos totalmente estandarizados.

Susceptibility to nystatin of oral *Candida* isolates and its correlation with the response to treatment

ABSTRACT

INTRODUCTION: oropharyngeal candidiasis is an early marker of progression to AIDS in HIV-positive patients and an indicator of non-adherence of treatment or possible failure in patients undergoing anti-retroviral therapy. **OBJECTIVE:** to determine the *in vitro* susceptibility to nystatin in *Candida* strains isolated from the oral cavity of HIV-positive patients, and to correlate the results with the response to treatment. **METHODS:** a study of *in vitro* susceptibility to nystatin was conducted in 104 oral isolates from 97 HIV/AIDS patients, who participated as volunteers in a clinical trial to evaluate the response to four antifungal drugs. Fifty-eight of the 104 isolates were obtained before starting treatment and the remaining 46 at the end of therapy. Broth microdilution method was performed according to the document M27-A3 of the Clinical and Laboratory Standards Institute. **RESULTS:** one hundred percent of the strains were susceptible to nystatin, with minimum inhibitory concentration (MIC) values of <16 µg/mL, regardless of the time of isolation and of the drug administered to patients. In the group of patients treated with nystatin, the MIC₈₀ ranges (1-2 µg/mL), geometric mean and cumulative values of the drug against *Candida albicans* isolates before starting treatment were similar to those obtained against strains recovered at the end. Among the identified species, *C. lusitanae* reached the highest absolute MIC value (4 µg/mL). **CONCLUSIONS:** the correlation between the clinical evolution and the results of *in vitro* susceptibility tests was good in patients with a favorable outcome; however, it did not allow predicting possible treatment failure.

Key words: oral candidiasis, HIV, AIDS, nystatin, therapeutic use, *in vitro* susceptibility.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Egusa H, Soysa NS, Ellepola AN, Yatani H, Samaranayake LP. Bucal Candidosis in HIV-infected patients. *Curr HIV Res.* 2008;6:485-99.
2. CDC NIH/IDSA Guidelines for prevention and treatment opportunistic infections among HIV- infected adults and adolescents. *MMWR.* 2009;58(RR-04):1-198.
3. Thompson GR, Patel PK, Kirkpatrick WR, Westbrook SD, Berg D, Erlandsen J, et al. Oropharyngeal candidiasis in the era of antiretroviral therapy. *Bucal Surg Bucal Med Bucal Pathol Bucal Radiol Endod.* 2010;109:488-95.
4. Fichtenbaum CJ, Powderly WG. Refractory mucosal candidiasis in patients with Human Immunodeficiency Virus Infection. *Clin Infect Dis.* 1998;26:556-65.
5. Prieto Santa Anna LM, Illnait Zaragoza MT, Ramos Rodallegas EG, Lazcano Herrero B, Márquez Sánchez N,

- Cantelar de Francisco N, et al. Candidiasis bucal en pacientes seropositivos al VIH y casos SIDA: Aspectos clínicos, micológicos y terapéuticos. Rev Cubana Med Trop [serie en Internet]. 2006 Dic [citado 01 Jun 2010]; 58(3):173-80. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php>. ISSN 0375-0760.
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard, 3rd ed. CLSI document M27-A3; 2008.
 7. Kuriyama T, Williams DW, Bagg J, Coulter WA, Ready D, Lewis MAO. *In vitro* susceptibility of bucal *Candida* to seven antifungal agents. Bucal Microbiol Immunol. 2005;20:349-53.
 8. Panackal AA, Gribskov JL, Staab JF, Kirby KA, Rinaldi M, Marr KA. Clinical significance of azole antifungal drug cross-resistance in *Candida glabrata*. J Clin Microbiol. 2006;44:1740-3.
 9. Magill SS, Shields C, Sears CL, Choti M, Merz WG. Triazole cross-resistance among *Candida* spp.: case report, occurrence among bloodstream isolates, and implications for antifungal therapy. J Clin Microbiol 2006;44:529-35.
 10. Louie A, Kaw P, Banerjee P, Liu W, Chen G, Miller MH. Impact of the order of initiation of fluconazole and amphotericin B in sequential or combination therapy on killing of *Candida albicans* in vitro and in a rabbit model of endocarditis and pyelonephritis. Antimicrob Agents Chemother. 2006;45:485-94.
 11. Atkinson BJ, Lewis RE, Kontoyiannis DP. *Candida lusitanae* fungemia in cancer patients: risk factors for amphotericin B failure and outcome. Med Mycol. 2008;46:541-6.
 12. Vargas KG, Joly S. Carriage frequency, intensity of carriage, and strains of bucal yeast species vary in the progression of bucal candidiasis in Human Immunodeficiency Virus-positive individuals. J Clin Microbiol. 2002;40:341-50.
 13. Blignaut E, Messer ES, Hollis RJ, Pfaller MA. Antifungal susceptibility of South African bucal yeast isolates from HIV/AIDS patients and healthy individuals. Diagn Microbiol Infect Dis. 2002;44:2477-81.
 14. Fernández C, Echেমendía Y, Cartaya T, Mendoza D. Sensibilidad *in vitro* a la nistatina de aislamientos vaginales de *Candida* spp. Rev Cubana Med Trop. 2001;53(3):194-8.
 15. Llovera V, Fernández C. Susceptibilidad *in vitro* de aislamientos vaginales de *Candida* frente a clotrimazol y nistatina. Rev Cubana Med Trop. 2003;55(3):138-45.
 16. Tratamiento de las infecciones oportunistas en pacientes adultos y adolescentes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana en la era del tratamiento antirretroviral de gran actividad. Recomendaciones del Grupo de Estudio del Sida (GESIDA)/Plan Nacional sobre el Sida. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2008;26(6):356-79.
 17. Santamaría JM, Zubero Z. Las micosis en los pacientes infectados por el VIH en la era de los tratamientos antirretrovirales de gran eficacia Rev Iberoam Micol. 2002;19:5-8.
 18. Fichtenbaum CJ, Powderly WG. Refractory mucosal candidiasis in patients with Human Immunodeficiency Virus Infection. Clin Infect Dis. 1998;26:556-65.
 19. Walmsley S, King S, Mc Geer A, Ye Y, Richardson S. Oropharyngeal Candidiasis in Patients with Human Immunodeficiency Virus: Correlation of Clinical Outcome with In Vitro Resistance, Serum Azole Levels, and Immunosuppression. Clin Infect Dis. 2001;32:1554-61.
 20. Johnson EM. Issues in antifungal susceptibility testing. J Antimicrob Chemother. 2008;61:(Suppl. 1):i13-i18.
 21. Nebavi F, Arnavielhe S, Le Guennec R, Menan E, Kacou A, Combe P, et al. Oropharyngeal candidiasis in AIDS patients from Abidjan (Ivory Coast): antifungal susceptibilities and multilocus enzyme electrophoresis analysis of *Candida albicans* isolates. Pathol Biol. 1998;46:307-14.
 22. Semis R, Polacheck I, Segal E. Nystatin-Intralipid Preparation: Characterization and In Vitro Activity Against Yeasts and Molds. Mycopathologia. 2010;169:333-41.
 23. Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK, Calandra TF, Edwards JE, et al. Clinical practice guidelines for the management of candidiasis: 2009 update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2009;48(5):503-35.

Recibido: 14 de marzo de 2010. Aprobado: 10 de junio de 2010.
 Dr. *Gerardo Martínez Machín*. Instituto de Medicina Tropical.
 Autopista Novia del Mediodía. Km 6 ½. Lisa. AP 601. Ciudad de
 La Habana, Cuba. Correo electrónico: gerardo@ipk.sld.cu