

Susceptibilidad antifúngica de aislados vaginales de *Candida* spp.

Antifungal susceptibility of *Candida* spp. vaginal isolates

Mayda Perurena Lancha, Yoldrey Pérez Muñoz, Carlos M. Fernández Andreu, Gerardo Martínez Machín, María Teresa Illnait Zaragozaí

Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí". La Habana, Cuba.

RESUMEN

Introducción: la vulvovaginitis constituye una de las principales afecciones ginecológicas, y su causa más frecuente es la candidiasis. *Candida albicans* se considera el agente etiológico más importante de esta entidad; sin embargo, estudios recientes revelan un incremento en la incidencia de otras especies del género. Algunas de estas tienen la particularidad de presentar resistencia a los tratamientos usuales con antimicóticos.

Objetivo: evaluar la susceptibilidad antifúngica de aislados vaginales de pacientes cubanas con sospecha de candidiasis vulvovaginal que se obtuvieron en el 2015.

Métodos: a 28 aislados pertenecientes al género *Candida*, se les realizó las pruebas de susceptibilidad *in vitro* con la galería ATB™ Fungus 3 frente a diferentes antifúngicos (5-fluorocitosina, anfotericina B, fluconazol, itraconazol y voriconazol).

Resultados: todos los aislados fueron sensibles a la anfotericina B y uno de *C. albicans* se informó resistente a los azoles estudiados. Todas las especies diferentes de *C. albicans* fueron susceptibles al voriconazol (CMI ≤ 1 mg/L).

Conclusiones: el estudio de patrones de susceptibilidad en aislados de *Candida* provenientes de mujeres con vulvovaginitis permite profundizar en cómo abordar la terapéutica de esta afección; el fluconazol resultó el tratamiento de elección. Los resultados alertan sobre la emergencia de *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. inconspicua* y *C. lusitaniae* como agentes causales de la candidiasis vulvovaginal.

Palabras clave: candidiasis vaginal; *Candida*; susceptibilidad; antifúngicos.

ABSTRACT

Introduction: vulvovaginitis is one of the main gynecological diseases frequently caused by candidiasis. *Candida albicans* is considered as the most important etiological agent for the disease; however, recent studies have revealed an increased incidence of other species of the genus. Some of them may show particular resistance to usual antimycotic treatments.

Objective: to evaluate the antifungal susceptibility of vaginal isolates from Cuban female patients suspected of vulvovaginal candidiasis in 2015.

Methods: twenty eight *Candida* genus isolates underwent *in vitro* susceptibility tests with ATB™ Fungus 3 using several antifungal agents (5 fluorocytosine, amphotericin B, fluconazole, itraconazole and voriconazole).

Results: all isolates were susceptible to B amphotericin and one *C. albicans* isolate was reported as resistant to the studied azoles. All the species other than *C. albicans* were susceptible to voriconazole (CMI ≤ 1mg/L).

Conclusions: the study of susceptibility patterns in *Candida* isolates from women with vulvovaginitis allow delving into the different ways of approaching the therapeutics of this disease; fluconazole was the treatment of choice. The results show emergence of *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. inconspicua* and *C. lusitaniae* as causative agents of vulvovaginal candidiasis.

Keywords: vaginal candidiasis; *Candida*; susceptibility; antifungal agents.

INTRODUCCIÓN

La candidiasis vulvovaginal (CVV), por su frecuencia y difícil tratamiento en ocasiones, es un problema sanitario de indudable importancia. Se estima que afecta al 75 % de las mujeres con al menos un episodio durante su vida, y en la mitad de ellas se reportan dos o tres cuadros infecciosos en un año. Aunque solo en un 5 % de los casos la enfermedad se vuelve crónica, las recurrencias suponen un reto para los ginecólogos y repercuten negativamente en la calidad de vida de las mujeres que la padecen.^{1,2}

La presencia de especies de *Candida* en la vagina como constituyentes de la microbiota normal está bien documentada y es otro aspecto que complica el diagnóstico de esta afección, pues se desconoce cuándo la cantidad de levaduras presentes en vagina tiene significación patológica o debe, por el contrario, interpretarse como simple comensalismo.³ Por otra parte, existe una conocida asociación entre el uso de anticonceptivos orales y tratamientos previos con antibióticos como factores predisponentes y un aumento significativo en la cuantía de levaduras en vagina.⁴

MÉTODOS

Candida albicans continúa siendo la especie más comúnmente implicada en la candidiasis vulvovaginal. Sin embargo, reportes recientes describen un relativo decremento de la infección por este microorganismo en comparación con el aumento de *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* como agentes

causales de la infección.⁵ Dichas especies tienden a ser menos sensibles a los azoles utilizados con mayor frecuencia en las terapias y además porque se asocian con los episodios de recurrencia.⁶

Al ser la identificación del agente causal la base para la caracterización epidemiológica de las infecciones, así como para la elección del tratamiento etiológico correcto,⁷ el objetivo fue evaluar la susceptibilidad antifúngica de aislados vaginales de pacientes cubanas con sospecha de candidiasis vulvovaginal que se obtuvieron en el 2015.

Se evaluaron los patrones de susceptibilidad *in vitro* de 28 aislados vaginales de *Candida*, ya identificados hasta el nivel de especie previamente, durante el 2015 en el Laboratorio de Micología del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".

Las especies estudiadas fueron *C. albicans* (16), *C. glabrata* (5), *C. krusei* (2), *C. parapsilosis* (2), *C. tropicalis* (1), *C. inconspicua* (1) y *C. lusitaniae* (1). Los valores de concentración mínima inhibitoria (CMI) de los aislados se determinaron empleando la galería ATB™ Fungus 3,⁸ donde las concentraciones críticas para dar los criterios de sensible, intermedio o resistente se tomaron de los métodos de referencia de dilución en caldo para determinar la susceptibilidad antifúngica de levaduras de importancia clínica, propuestos por el CLSI (CLSI, del inglés Clinical and Laboratory Standards Institute) en el 2008.⁹

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

C. albicans es la causa más frecuente de la candidiasis vulvovaginal no complicada, y en la mayoría de los casos existe una buena respuesta a la terapia antifúngica. De los 16 aislados de *C. albicans*, la totalidad (100 %) fue sensible a la anfotericina B, todas con $CMI \leq 0,5$ mg/L, concentración inferior al valor de corte que se sugiere para considerar como resistente a los aislados de las diferentes especies de *Candida* ($CMI \geq 2$ mg/L) según normativas del CLSI para este antifúngico (Fig.).

Dos de los aislados de *C. albicans* mostraron resistencia al fluconazol con $CMI \geq 128$ mg/L (12,5 %), dos al itraconazol con una $CMI \geq 4$ mg/L (12,5 %), mientras que para el voriconazol un aislado (6,25 %) con una $CMI \geq 8$ mg/L. Al evaluar la 5-fluorocitosina, 15 aislados (93,75 %) fueron sensibles y uno (6,25 %) fue resistente (Fig.).

Los resultados de este estudio ratifican la sensibilidad del 100 % de los aislados de *C. albicans* a la anfotericina B en correspondencia con lo notificado por Dolande y otros.¹⁰ A pesar de no ser el antifúngico de elección para la candidiasis vulvovaginal, este continúa siendo el tratamiento de elección para las micosis profundas.

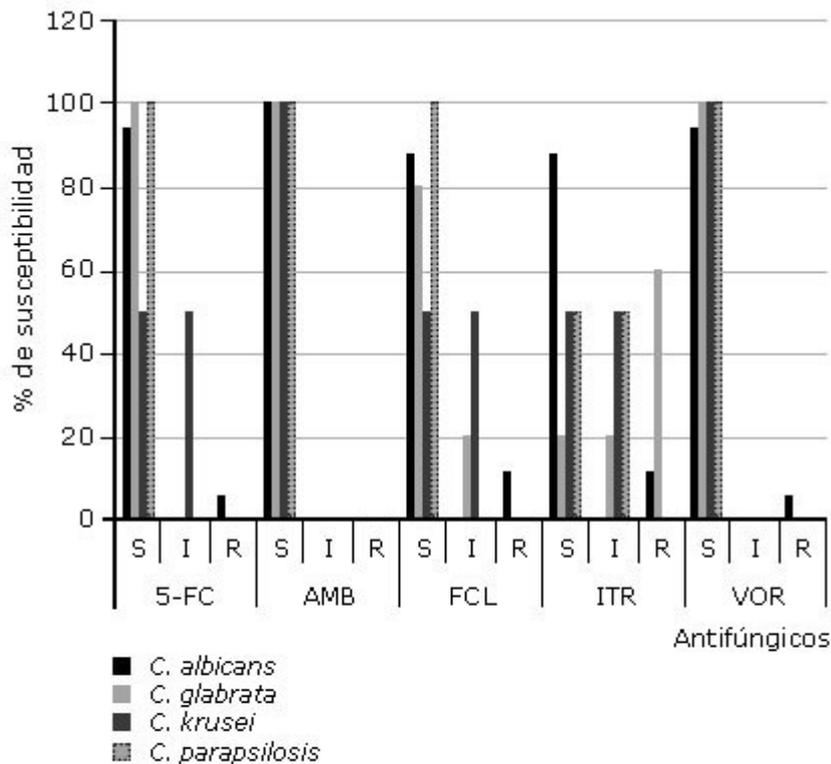


Fig. Susceptibilidad de los aislados de *Candida* expresada como el porcentaje de especies sensibles (S), susceptibilidad intermedia (I) y resistente (R) frente a los antifúngicos evaluados: 5-fluorocitosina (5-FC); anfotericina B (AMB); fluconazol (FCL); itraconazol (ITR) y voriconazol (VOR).

A pesar de que el 87,5 % de los aislados de *C. albicans* fueron sensibles *in vitro* a los azoles estudiados, se describe resistencia a estos en la referida especie.¹¹ En correspondencia, para uno de los aislados se informó resistencia a los tres incluidos en la galería de ATB™ Fungus 3. En este estudio la resistencia a azoles fue baja, aunque debemos señalar que el uso indiscriminado del tratamiento con estas drogas puede ejercer una presión selectiva incrementado la resistencia de *C. albicans* a estos antifúngicos.¹² Otros estudios enfatizan la naturaleza fungistática del fluconazol, lo cual, en cierto modo, explica la resistencia de algunas cepas a este agente. La acción fungistática depende de varios factores como son la densidad celular y el pH de la vagina, los cuales garantizan la efectividad en la acción del referido fármaco.¹³ *Mathema* y otros¹⁴ reportan como resistentes al fluconazol solo 2,15 % de los aislados de *C. albicans* estudiados en el 2011, en mujeres jóvenes.

Respecto al antifúngico 5-fluorocitosina, el presente estudio evaluó CMI de 4 y 16 mg/L. Un estudio de candidiasis vulvovaginal recurrente realizado por *Richter* y otros, en EUA, reporta que del total de aislados de *C. albicans*, el 3,0 % fue resistente a 5-fluorocitosina, presentando altos valores de CMI (CMI > 128 mg/L).¹⁵ Según *Liu* y otros,¹⁶ la resistencia a la 5-fluorocitosina puede deberse a una pérdida o una mutación en el gen *FUR1* que codifica para la enzima uracil fosforibosil transferasa, encargada de la inserción del compuesto en el ARN del microorganismo.

Un incremento de otras especies de *Candida* se reporta como agentes etiológicos de la candidiasis vulvovaginal recurrente. Las especie más frecuentemente en este estudio fue *C. glabrata* (18 %). Esta especie genera dificultades terapéuticas debido a la emergencia de nuevos patrones de susceptibilidad a los antifúngicos.

Especialmente, se evidencia la resistencia intrínseca de *C. krusei* al fluconazol y la sensibilidad variable de *C. glabrata*. El origen de la resistencia a esta droga puede estar influenciado por las diferencias en la permeabilidad de la membrana (baja acumulación intracelular de esta droga) que por la afinidad disminuida del citocromo P-450 por esta droga.^{15,17}

Todos los aislados de *C. krusei* y *C. glabrata* resultaron sensibles al voriconazol. Esto coincide con lo reportado en un estudio de candidiasis vulvovaginal por especies diferentes de *C. albicans* de Holland y otros en 2003.¹⁸ Sin embargo, el comportamiento de los aislados de *C. glabrata* para itraconazol y fluconazol fue variable. De los cinco aislados, uno (20 %) resultó con susceptibilidad intermedia (CMI de 16 mg/L) frente al fluconazol, y para el itraconazol uno mostró susceptibilidad intermedia (CMI de 0,25 mg/L) y tres (60 %) resultaron resistentes (CMI \geq 1 mg/L). Holland y otros¹⁸ en 29 cepas de *C. glabrata*, encontraron 21 (71 %) con susceptibilidad intermedia al fluconazol mientras que un solo aislado fue resistente. De los dos aislados de *C. krusei*, uno resultó ser intermedio tanto para fluconazol como para el itraconazol (Fig.). El hecho de que en este estudio, las especies menos comunes de *Candida* presenten una disminución en la susceptibilidad al fluconazol y en algunas al itraconazol, es importante pues estas emergen como resultado de la terapia con azoles a que son sometidos los pacientes, lo cual genera resistencia.¹⁹

Respecto a la 5-fluorocitosina, un aislado de *C. krusei* mostró susceptibilidad intermedia para este antifúngico. Richter y otros¹⁵ reportaron que el 75 % de los aislados de *C. krusei* se comportaron con susceptibilidad intermedia para este antifúngico.

La actualización en el conocimiento acerca de las especies de *Candida* causantes de candidiasis vaginal y su susceptibilidad es de vital importancia para orientar al personal de salud en la terapéutica de esta afección. A pesar de que *C. albicans* continúa siendo la levadura más aislada como agente causal de las vulvovaginitis, los resultados de este estudio, aunque de forma preliminar, avizoran sobre un fenómeno emergente que sugiere una asociación cada vez más estrecha entre especies diferentes de *C. albicans* y los cuadros de candidiasis vulvovaginal, y alertan sobre el ligero incremento de la resistencia a los azoles.

Conflictos de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Cararach M, Comino R, Davi E, Marimon E, Martínez JC, Palacios S, et al. La vulvovaginitis candidiásica recurrente. Prog Obstet Ginecol. 2013;56(2):108-16.
2. Mahmoudi RM, Zafarghandi S, Abbasabadi B, Tavallaee M. The epidemiology of *Candida* species associated with vulvovaginal candidiasis in an Iranian patient population. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2011;155(2):199-203.

3. Cassone A. Vulvovaginal *Candida albicans* infections: pathogenesis, immunity and vaccine prospects. BJOG. 2015;122:785-94.
4. Davies S, Johnson E, White D. How to treat persistent vaginal yeast infection due to species other than *Candida albicans*. Sex Transm Infect. 2013;89:165-6.
5. Babic M, Bosn H. *Candida albicans* and non-*albicans* species as etiological agent of vaginitis in pregnant and non-pregnant women. J Basic Med Sci. 2010;10(1):89-97.
6. Hettiarachchi N, Ashbee HR, Wilson JD. Prevalence and management of non-*albicans* vaginal candidiasis. Sex Transm Infect. 2010;86(2):99-100.
7. Romero R, Nygaard I. CDC updates guidelines for treating sexually transmitted diseases. Am J Obstet Gynecol. 2015;213:117-8.
8. Manual ATB™ Fungus 3. Francia: BioMérieux SA; 2002.
9. Wayne PA. Clinical and Laboratory Standards Institute: Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard. CLSI document M27-A3. CLSI. 2008;28:6-12.
10. Dolande ME, Vera F, Panizo MM, Macero C, Moreno X, Calvo A, et al. Distribución y sensibilidad a los antifúngicos de aislamientos clínicos de *Candida* en seis centros de salud del área metropolitana de Caracas, Venezuela. Rev Iberoam Micol. 2008;25:17-21.
11. Cuenca M. Antifúngicos en el tratamiento de las infecciones sistémicas: importancia del mecanismo de acción, espectro de actividad y resistencias. Rev Esp Quimioter. 2010;23(4):169-76.
12. Shahid Z, Sobel JD. Reduced fluconazole susceptibility of *Candida albicans* isolates in women with recurrent vulvovaginal candidiasis: effects of long-term fluconazole therapy. Diagn Microbiol Infect Dis. 2009;64:354-6.
13. Rambach G, OberhauseHr, Speth C, Lass-Florl C. Susceptibility of *Candida* species and various moulds to antimycotic drugs: use of epidemiological cutoff values according to EUCAST and CLSI in an 8-year survey. Med Mycol. 2011;49:856-63.
14. Mathema BE, Cross ED, Park S, Bedell J, Slade B, Williams M, et al. Prevalence of vaginal colonization by drug-resistant *Candida* species in college-age women with previous exposure to over-the-counter azole antifungals. Clin Infect Dis. 2011;33:23-7.
15. Richter SS, Galask RP, Messer SA, Hollis RJ, Diekema DJ, Pfaller MA. Antifungal susceptibilities of *Candida* species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. J Clin Microbiol. 2005;43(5):2155-62.
16. Liu XP, Fan SR, Bai FY, Li J, Liao QP. Antifungal susceptibility and genotypes of *Candida albicans* strains from patients with vulvovaginal candidiasis. Mycoses. 2009;52:24-8.

17. Gunther LSA, Martins HPR, Gimenes F, Abreu ALP, Consolaro MEL, Svidzinski TIE. Prevalence of *Candida albicans* and non- *albicans* isolates from vaginal secretions: comparative evaluation of colonization, vaginal candidiasis and recurrent vaginal candidiasis in diabetic and non-diabetic women. São Paulo Med J. 2014;132(2):116-20.
18. Holland J, Young ML, Lee O, Chen CA. Vulvovaginal carriage of yeasts other than *Candida albicans*. Sex Transm Infect. 2003;79:249-50.
19. Pappas PG , Kauffman CA , Andes DR , Clancy CJ , Marr KA , Ostrosky-Zeichner L , et al. Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis. 2016;62(4):e1-50.

Recibido: 15 de julio de 2016.
Aprobado: 25 de noviembre de 2016.

Mayda Rosa Perurena Lancha . Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí".
Autopista Novia del Mediodía Km 6½, Lisa. La Habana, Cuba. Correo electrónico:
mrpl@ipk.sld.cu