



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA, PARASITOLOGÍA E
INMUNOLOGÍA

MICROBIOLOGIA I

ANTIFUNGICOS

Teórico 18

Dra Maria Teresa Mujica

Bibliografía

MICOLOGÍA CLINICA: UNA VISION ACTUAL Editorial Eudeba,
2016

MICROBIOLOGÍA MÉDICA. Murray y col. Elsevier. 5^aEd.
Barcelona, 2006.

MICROBIOLOGÍA MÉDICA. Murray PR y col. Ed. Elsevier,
Barcelona, 2009

MICOLOGÍA MÉDICA (ILUSTRADA). Arenas, Roberto.
Mc Graw Hill. 3º Ed. México, 2008.

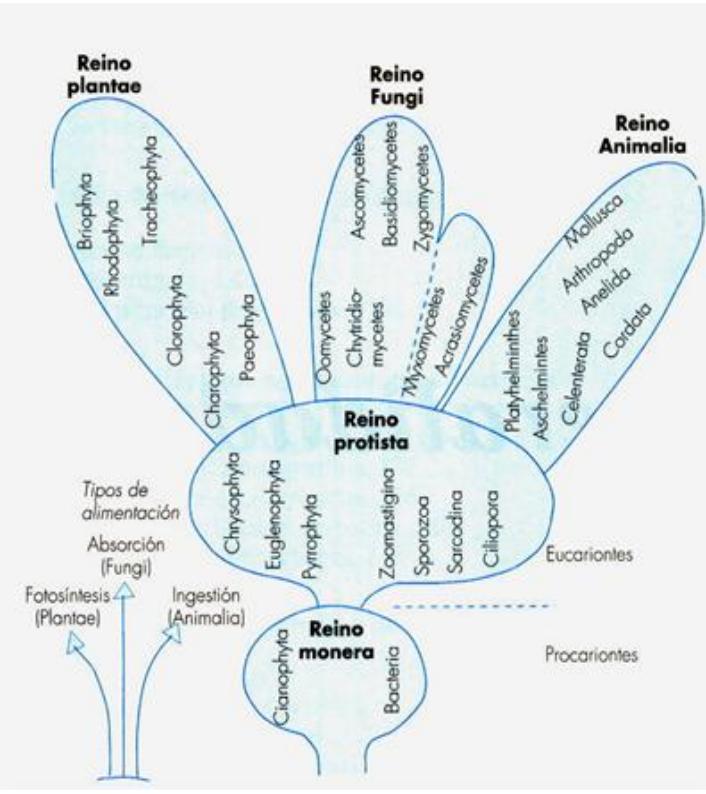
MICOLOGÍA MÉDICA (ILUSTRADA). Arenas, Roberto.
Mc Graw Hill. 4º Ed. México, 2011.

MICOLOGÍA MÉDICA BÁSICA. Bonifaz, Alejandro. Mc
Graw Hill. 3º Ed. México, 2010.

La clase contiene información que completa la de los textos

Objetivos

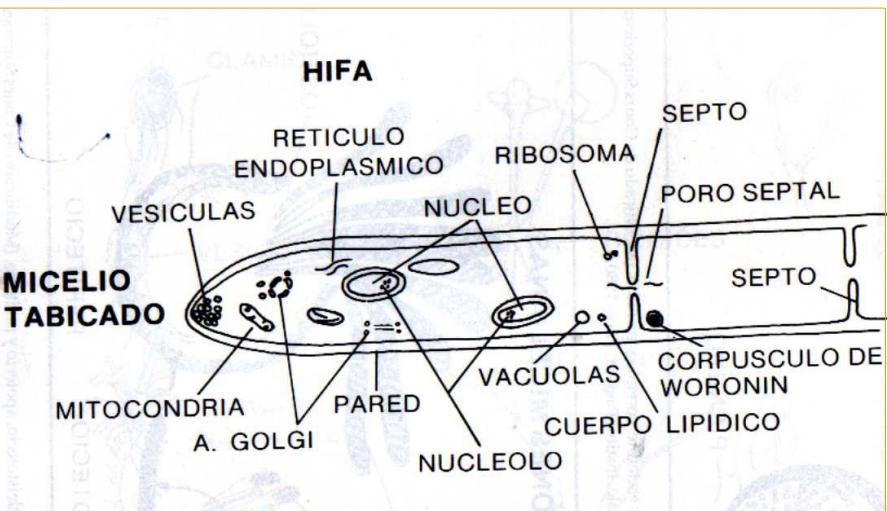
- Conocer los distintos antifúngicos (ATF) y sus mecanismos de acción sobre la célula fúngica.
- Comprender los mecanismos de la adquisición de la resistencia a los ATF.
- Conocer los métodos de determinación de la susceptibilidad a los antifúngicos.



La célula fúngica

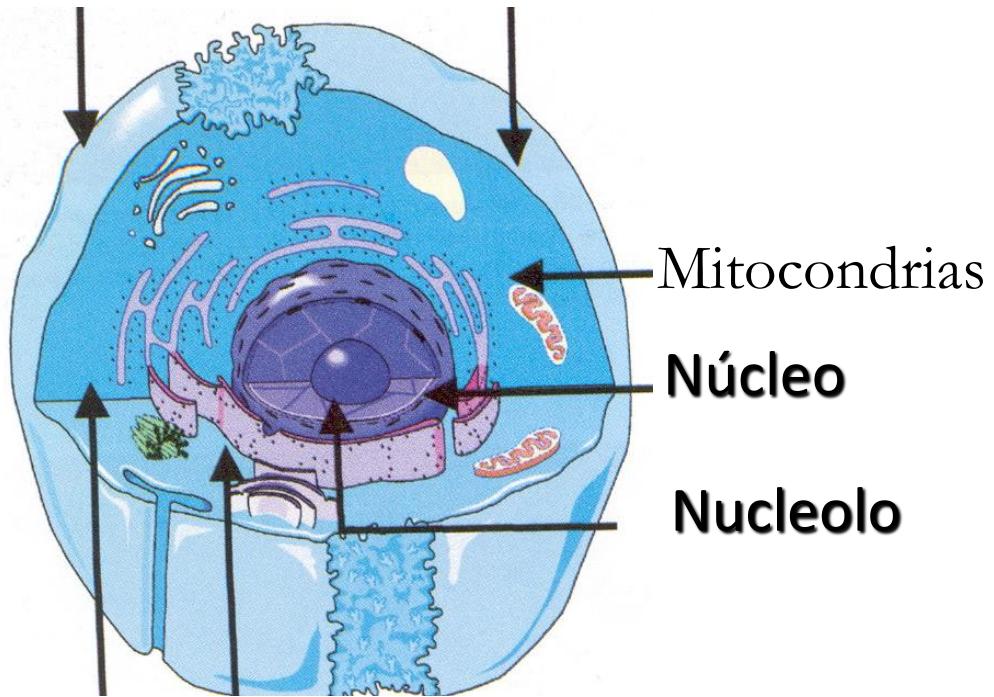
- ❖ Hongos son eucariotas
- ❖ Unicelular o multicelular (levaduras miceliales)
- ❖ Distinguidos de otros reinos
 - Organización estructural
 - Nutrición: absorción de nutrientes previa degradación de biopolímeros.
 - Crecimiento
 - Reproducción (esporas o conidios)

Célula Fúngica

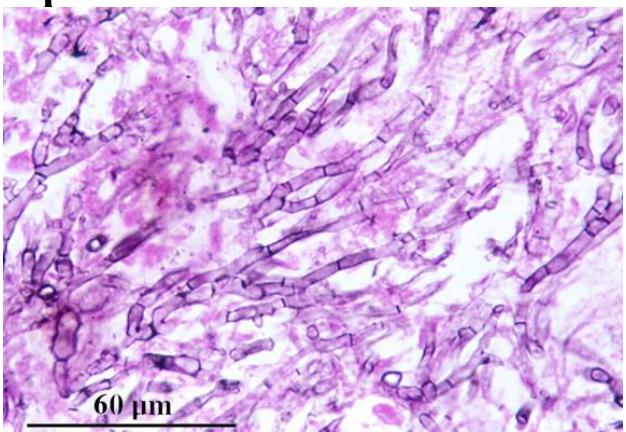


Pared celular

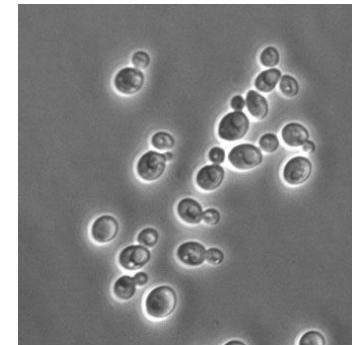
Membrana celular



Hongos
pluricelulares

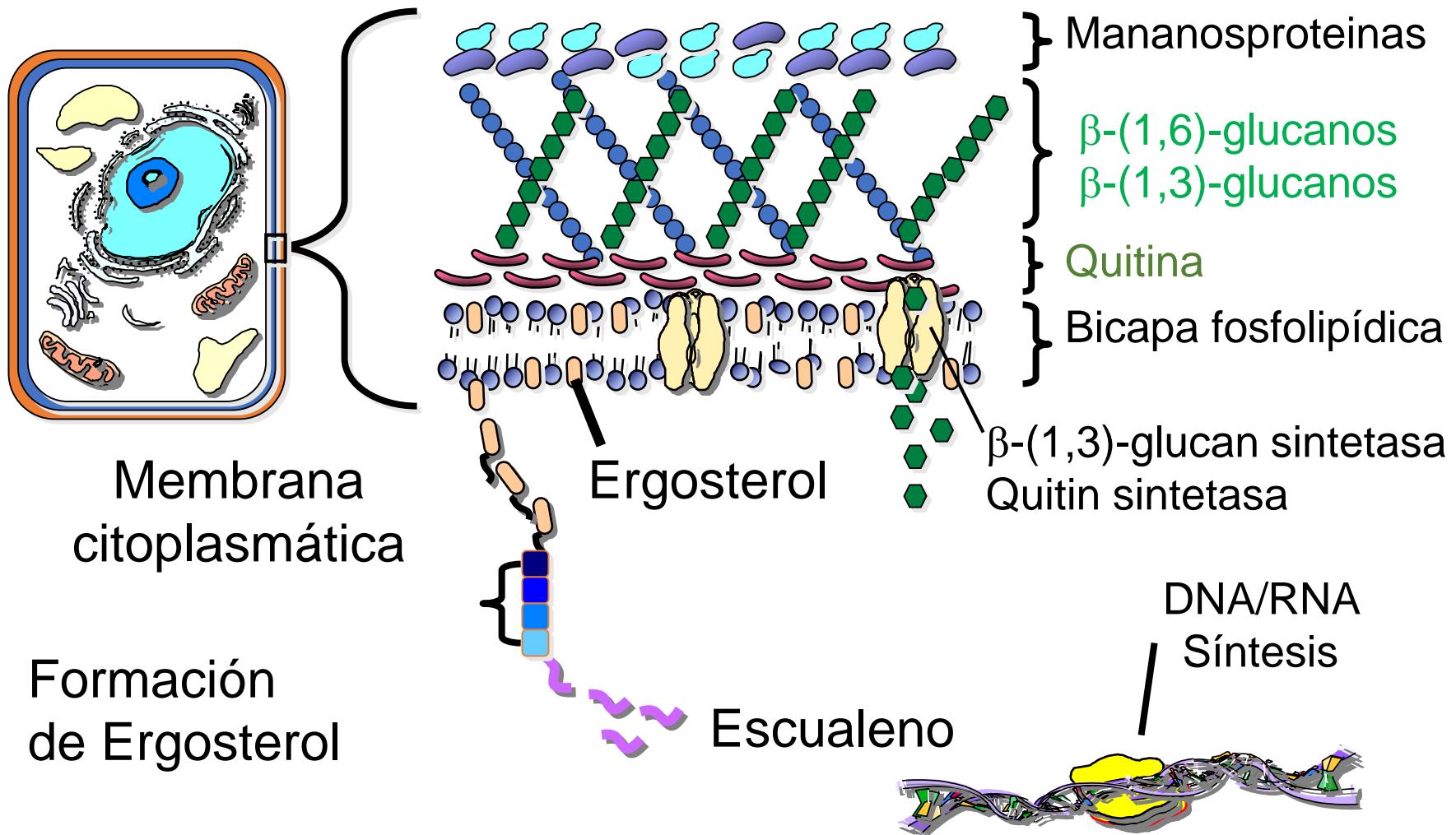


Hongos
unicelulares



Célula fúngica

Pared: estructura fibrilar y capa amorf

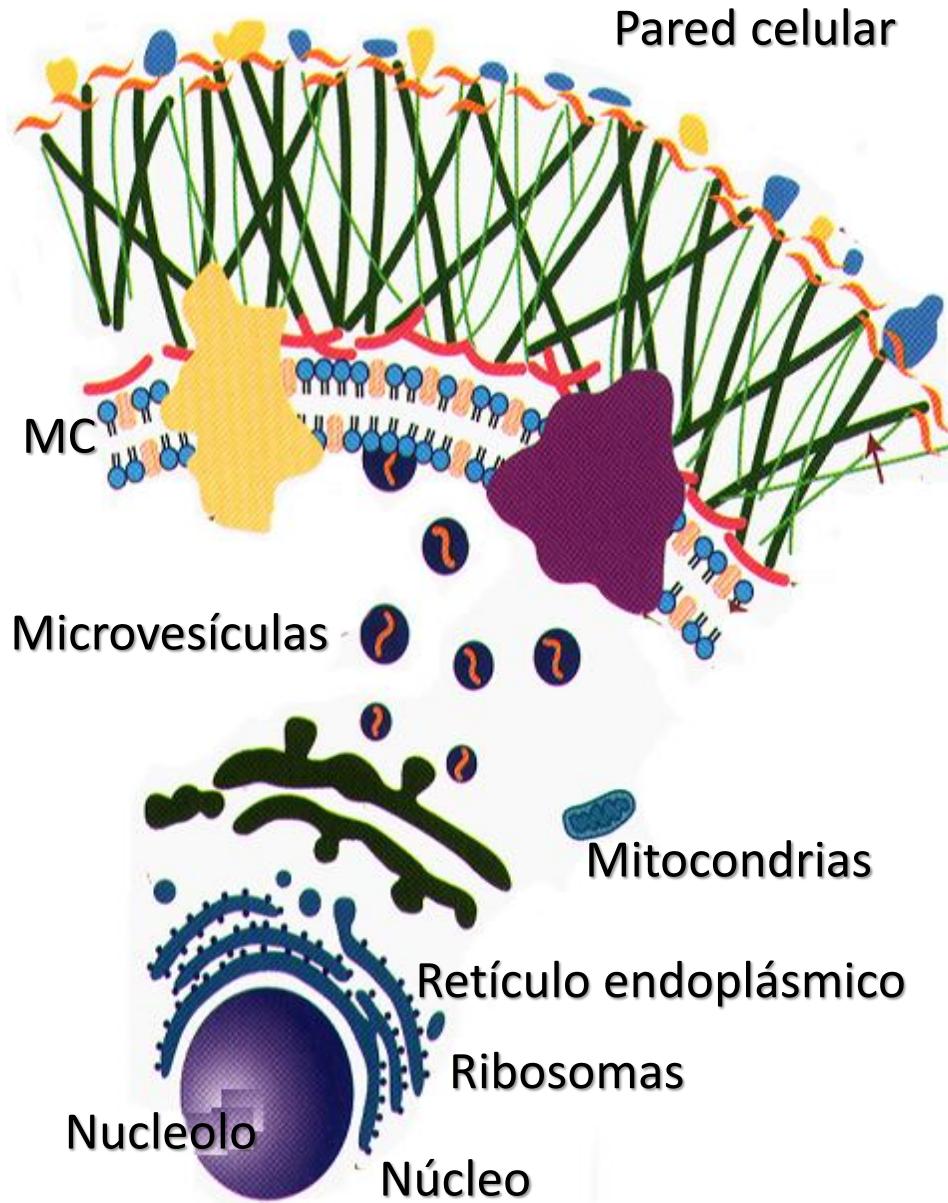


Citoplasma

Citoesqueleto:

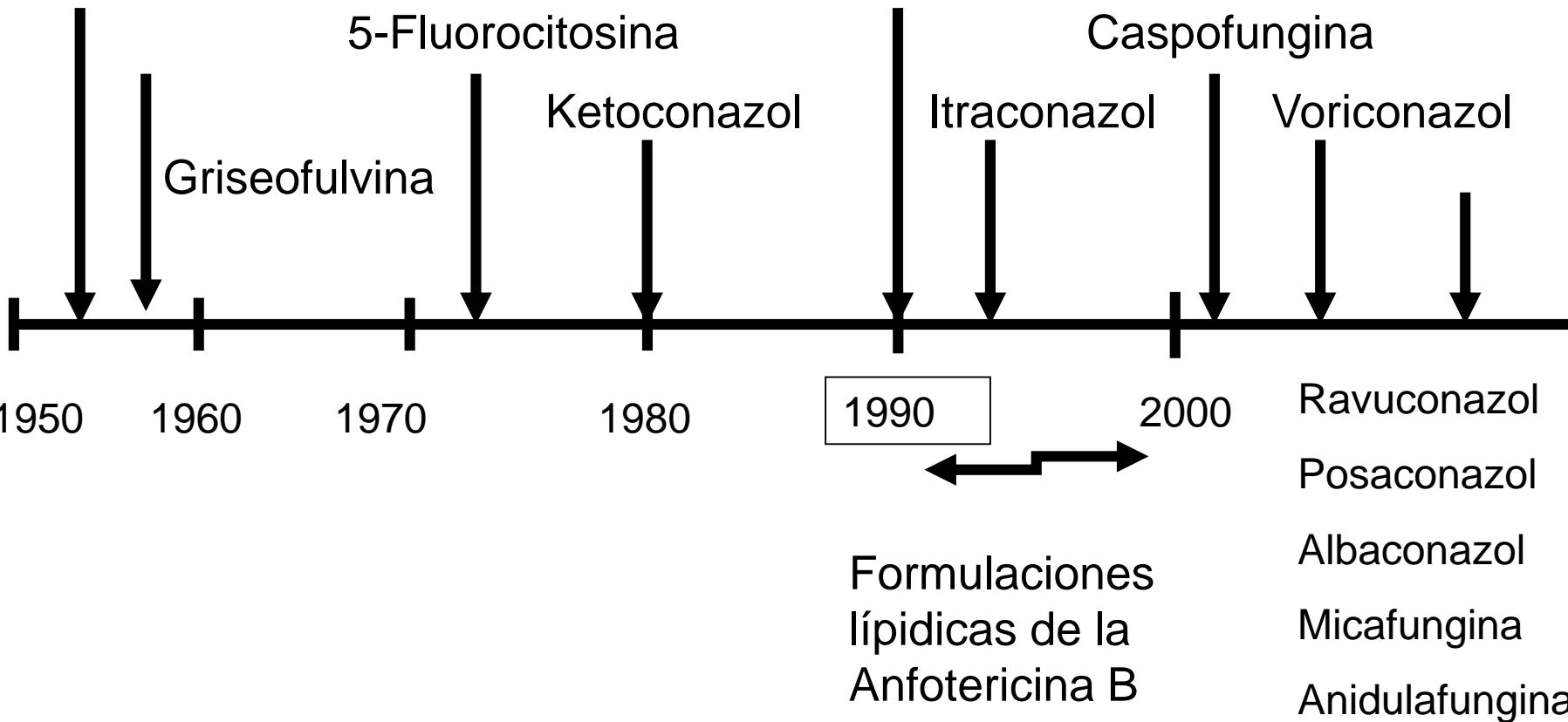
microtúbulos (β tubulina) y
microfilamentos (actina)

Circulación de las organelas y
separación de los cromosomas
en la división celular



Antifúngico- evolución histórica

Anfotericina B



Formulaciones
lípidicas de la
Anfotericina B

Clasificación de los antifúngicos

Los antimicóticos incluye una amplia variedad de sustancias con diferentes estructuras químicas y mecanismos de acción. La clasificación se realiza según criterios convencionales de acuerdo a su:

Estructura: polienos, azoles, alilaminas, entre otros.

Origen: sustancias producidas por organismos vivos o derivados de síntesis química.

Espectro de acción: amplio o restringido Sitio de acción: membrana celular, pared fúngica, ARN

Drogas antifúngicas: estructura y clasificación

➤ Polienos

Anfotericina B desoxicolato y formulaciones lipidicas Nistatina – Natamicina

➤ Azoles

Imidazoles: Ketoconazol, miconazol
Triazoles : fluconazol- itraconazol- voriconazol- posaconazol y raviiconazol

➤ Alilaminas

Terbinafina

➤ Pirimidinas fluoradas

Fluocitocina

➤ Lipopéptidos

Candinas: Caspofungina Anidulofungina, Micafungina

➤ Péptidos nucleósidos

Nikomicina Z

➤ Derivados

tetrahidrofuranos Sordarinas –azasordarinas

➤ Otras

Griseofulvina Tiocarbamatos: tolnaftato, Morfolinas: amorolfina

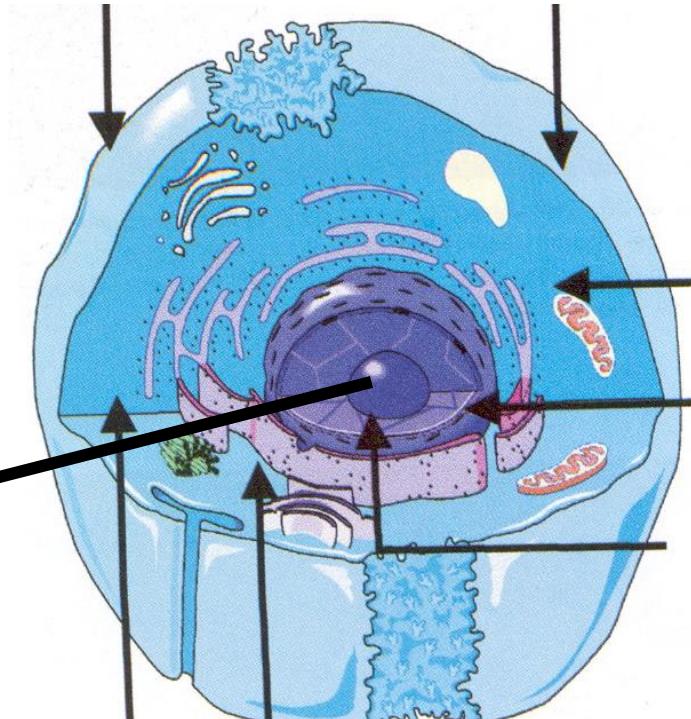
Célula Fúngica

Pared celular

Candinas
Nikomicina Z

Nucleolo

Síntesis proteica
sordarinas



Membrana celular

Polienos Azoles
Alilaminas
Tiocarbamatos
Morfolinas

Mitocondrias

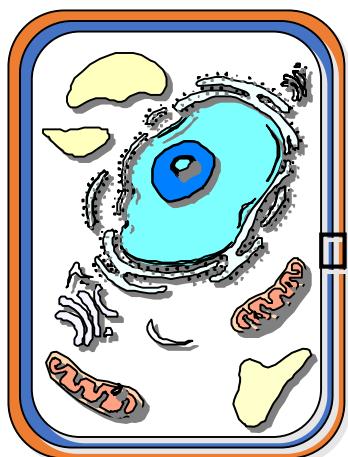
Núcleo

Pirimidinas
fluoradas: 5- FC

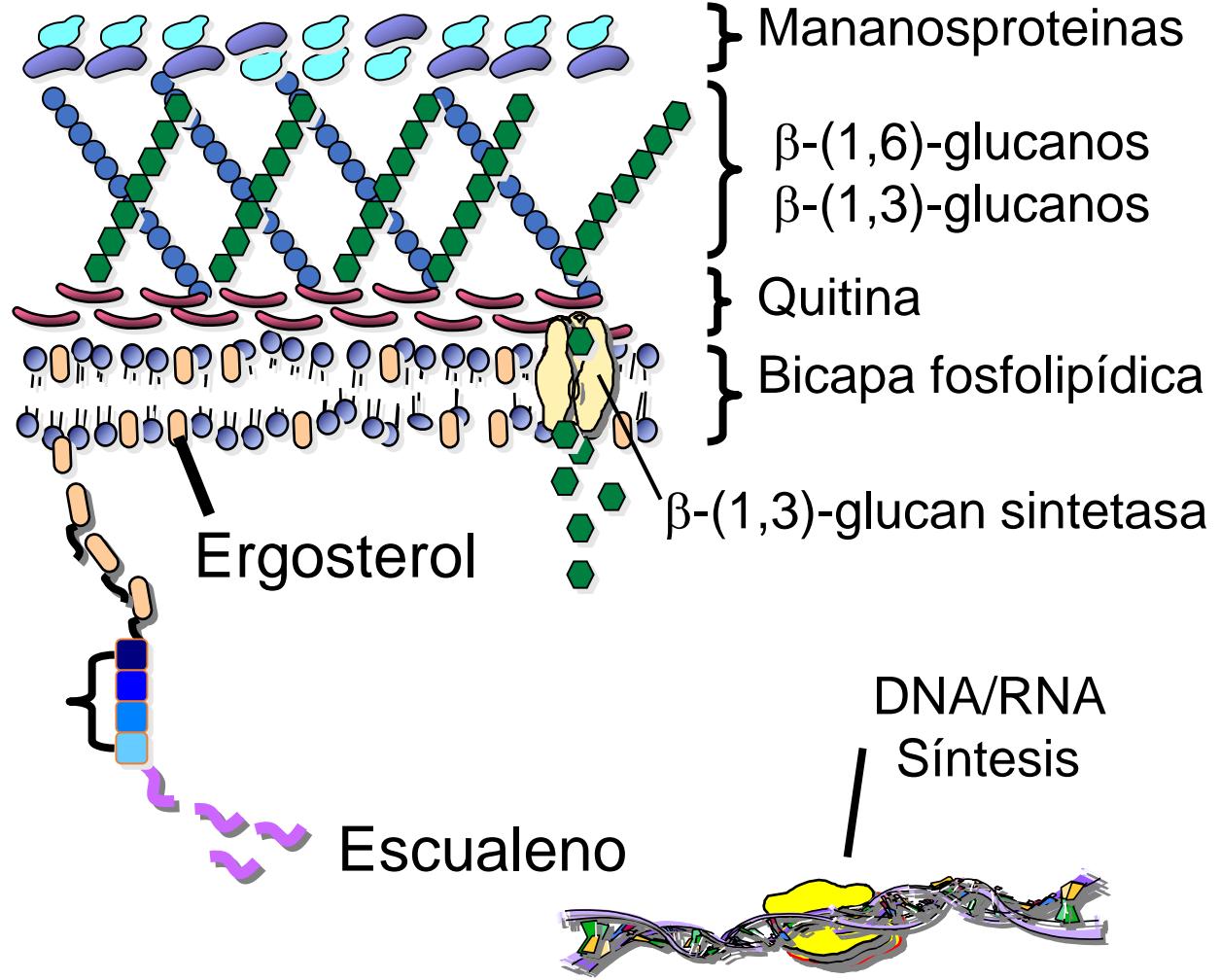
Retículo
endoplásmico

Membrana celular y Pared

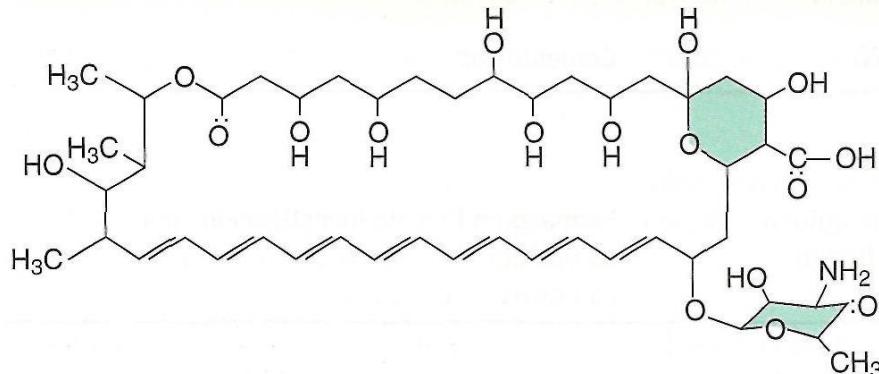
Célula
fungica



Formación
de Ergosterol



Anfotericina B (polieno)



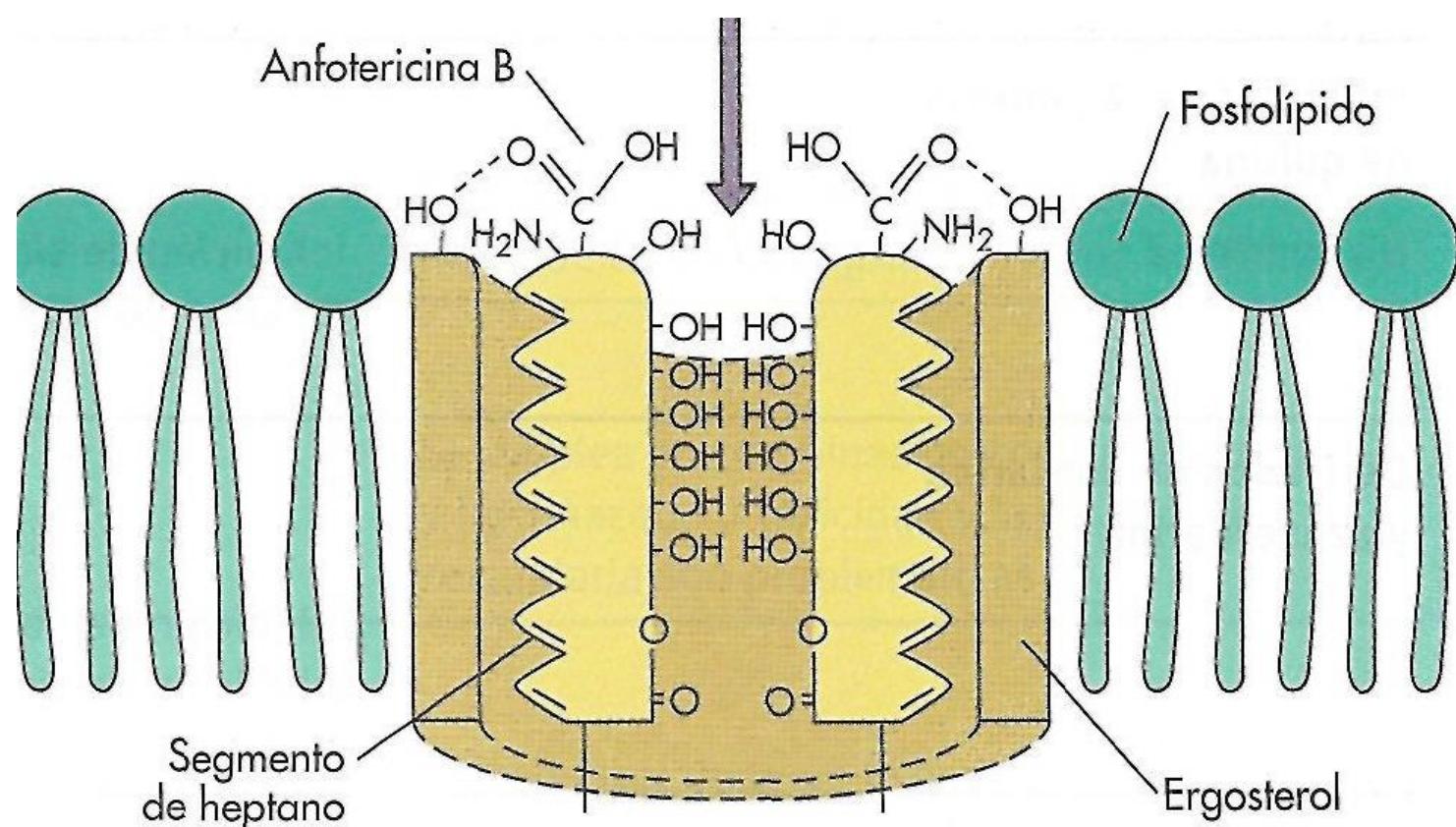
Anfotericina B

(1955)

Streptomyces nodosus

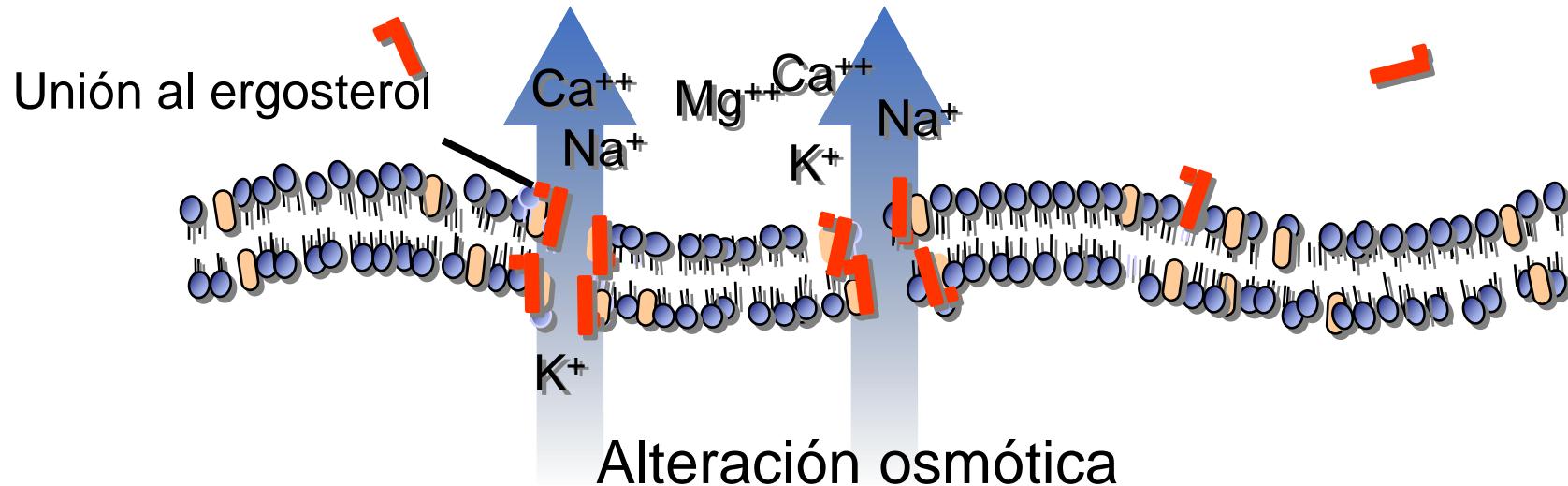
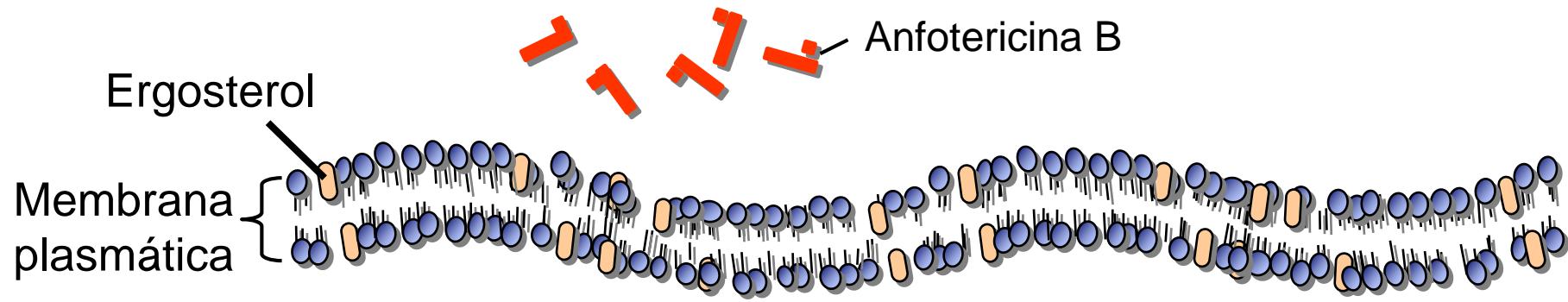
“Standard de oro”*

PORO



*Hoy en día se cuestiona su uso como tal

Mecanismo de acción: Unión al ergosterol y formación de poros transmembrana



Farmacocinética

- **Baja** absorción por vía oral (5%)
- Vía de administración: **i.v.** lenta.
- Alta unión proteica 90-95%
- Se **fija** a membranas citoplasmáticas, concentra en hígado, pulmón, bazo y **riñones**
- Atraviesa meninges inflamadas y placenta

Efectos adversos

- Toxicidad dependiente de la dosis.
- Nefrotoxicidad: dosis acumulada máxima: 4-5 g.(adecuada hidratación!!!)



- Smas. de administración: fiebre escalofríos y temblores; cefalea, vómitos, hipotensión. Tromboflebitis y necrosis tisular. Efecto inmunomodulador
- Anemia normocítica normocrómica

Formulaciones lipídicas de anfotericina B

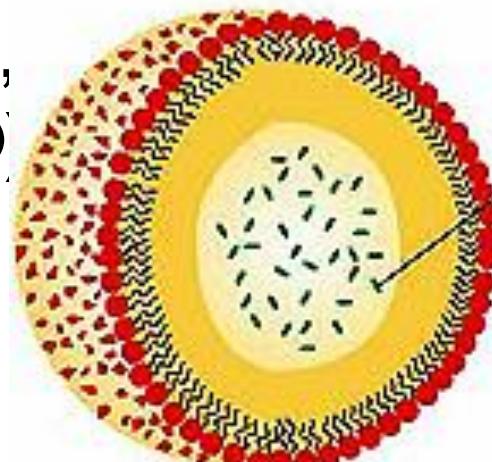
1- Anfotericina B en complejos lipídicos:

L- α-dimiristofosfatidilcolina; L- α-dimiristofosfatidilglicerol. (ABLC, Albecet®)

Mayor tolerancia y menor toxicidad

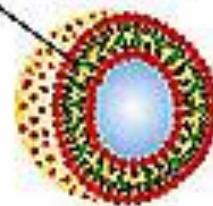
2- Anfotericina B en dispersión coloidal (ABCD, Amphocil ® o Amphotec ®)

Emulsion droplet



Drug molecules

Liposome



300 nm

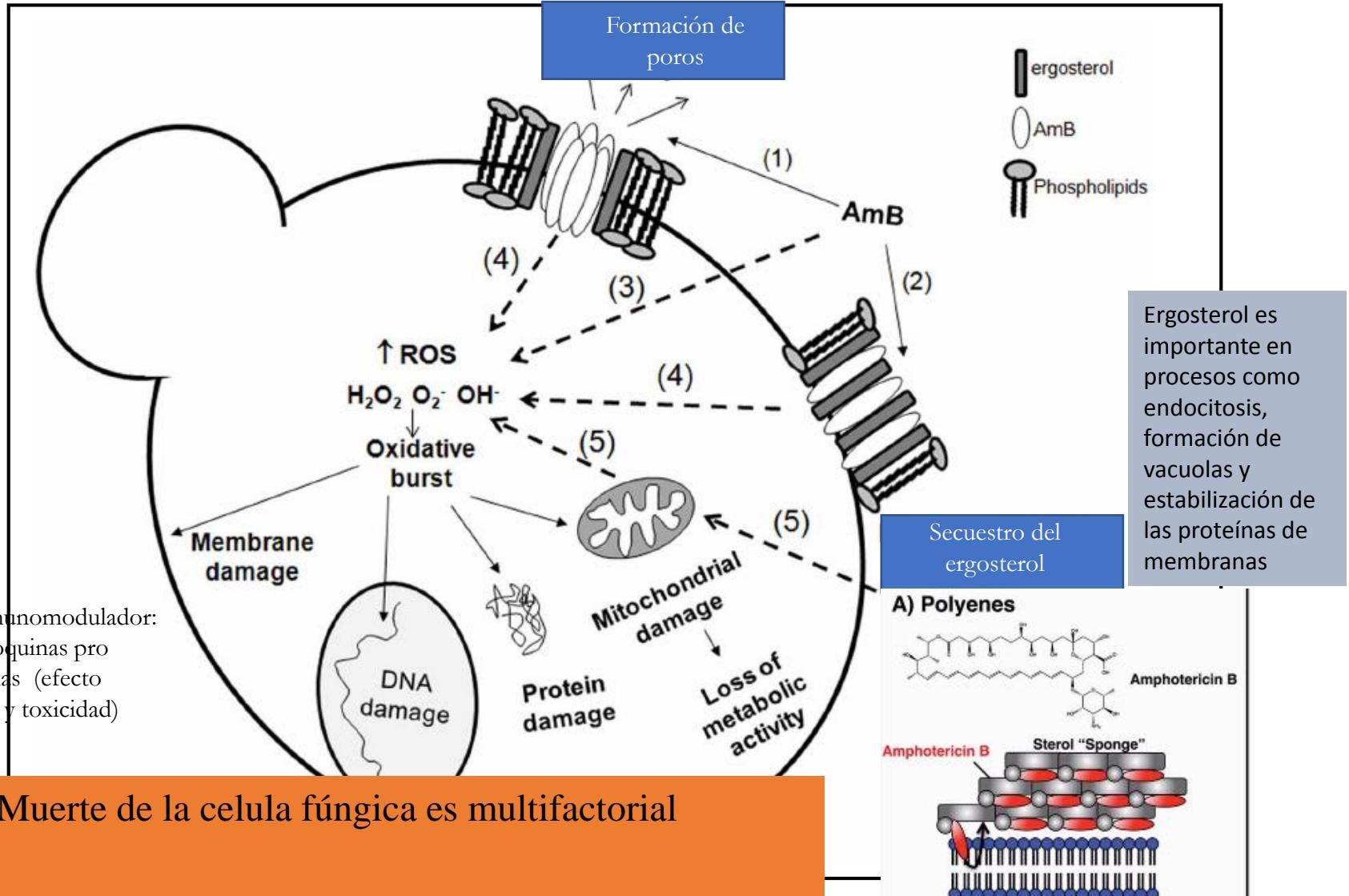
60 nm

3- Anfotericina B liposomal (L-AmB, Ambisome ®)

Propiedades e indicaciones de las formulaciones de Anfotericina B asociadas a lípidos

- Eficacia similar a la Anfotericina B deoxicolato (convencional)
- Menor nefotoxicidad
- Alto costo
- Indicadas en pacientes con infecciones fúngicas sistémicas que presentan intolerancia al tratamiento con anfotericina B deoxicolato o ante falla renal preexistente

Mecanismo de acción

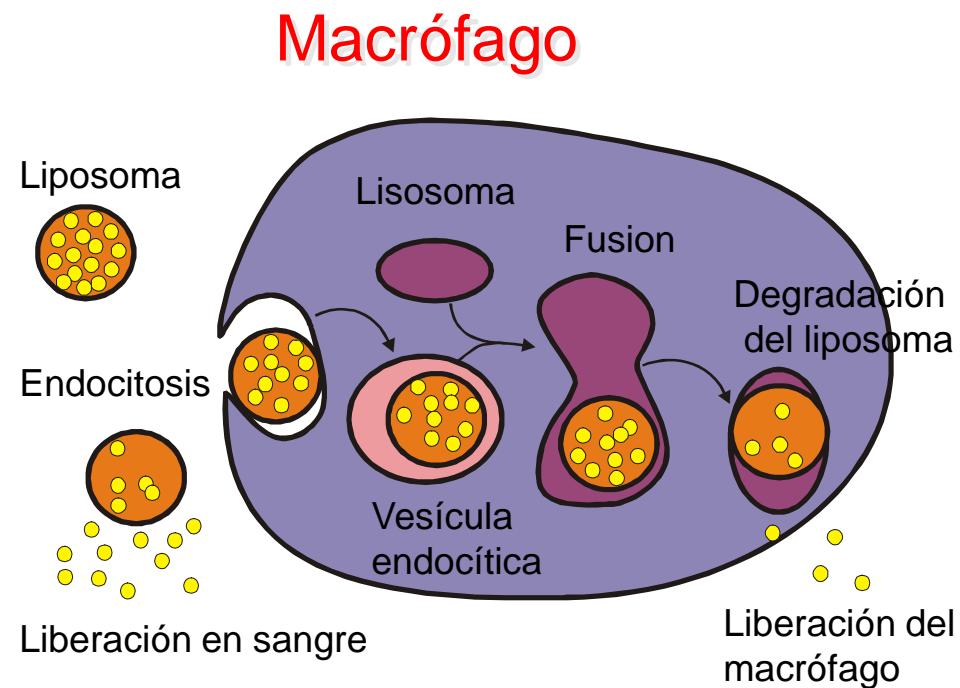


Mecanismo de liberación

Mecanismo desconocido

➤ Secuestro selectivo por parte del SRE

➤ Alta fagocitosis y eliminación lenta por parte del macrófago



Mecanismo de Acción

- Pro-droga (derivado fluorado de citosina).
- En el citoplasma de la célula fúngica se transforma en 5- fluoruracilo.
- Alteración de la síntesis de ácidos nucleicos y de síntesis proteica
- Fue utilizada en trat. de candidiasis y criptococosis asociada a AMB

Alta resistencia si se la administra sola

Se absorbe por vía gastrointestinal

5-fluorocitosina

Inhibe la timidilato sintasa
Inhibe la síntesis de DNA

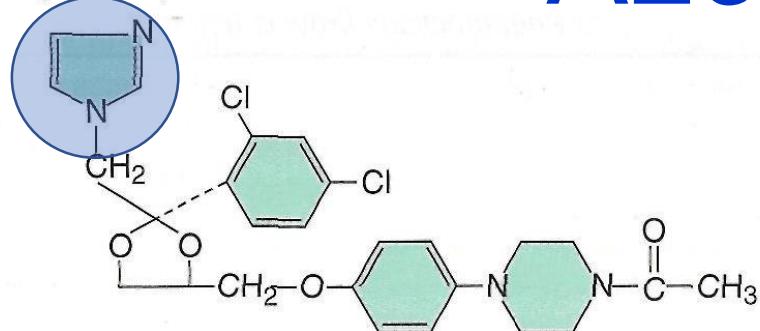


Flucytosine; chemical structure.

5-fluoro-UTP
Incorporado en RNA
Interrumpe la síntesis proteica

Azólicos

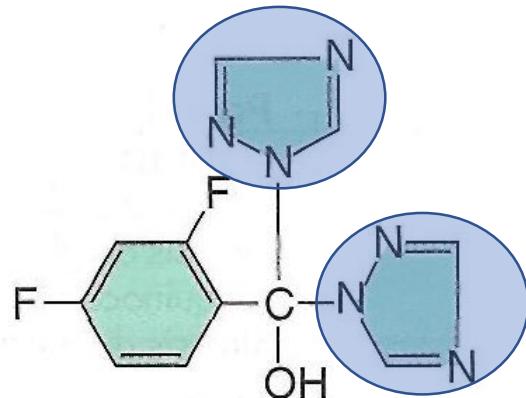
Ketoconazol (imidazol)



B

Imidazoles: Miconazol, Ketoconazol,
Triazoles: Fluconazol, Itraconazol- (primera generación)
↓
Voriconazol, Posaconazol- (segunda generación)

Fluconazol, triazol



Síntesis Ergosterol

Gen *ERG 1*

Alilamidas

Tiocarbamatos

Escualeno

2,3 oxidoescualeno

Lanosterol 14 α
demetilasa
Gen *ERG 11*

Lanosterol

Azoles
1-Fluconazol
2-Voriconazol
3- Itraconazol
4-Posaconazol
Morfolinas

Zymosterol

Gen *ERG 24* Δ C-14 esterol
reductasa

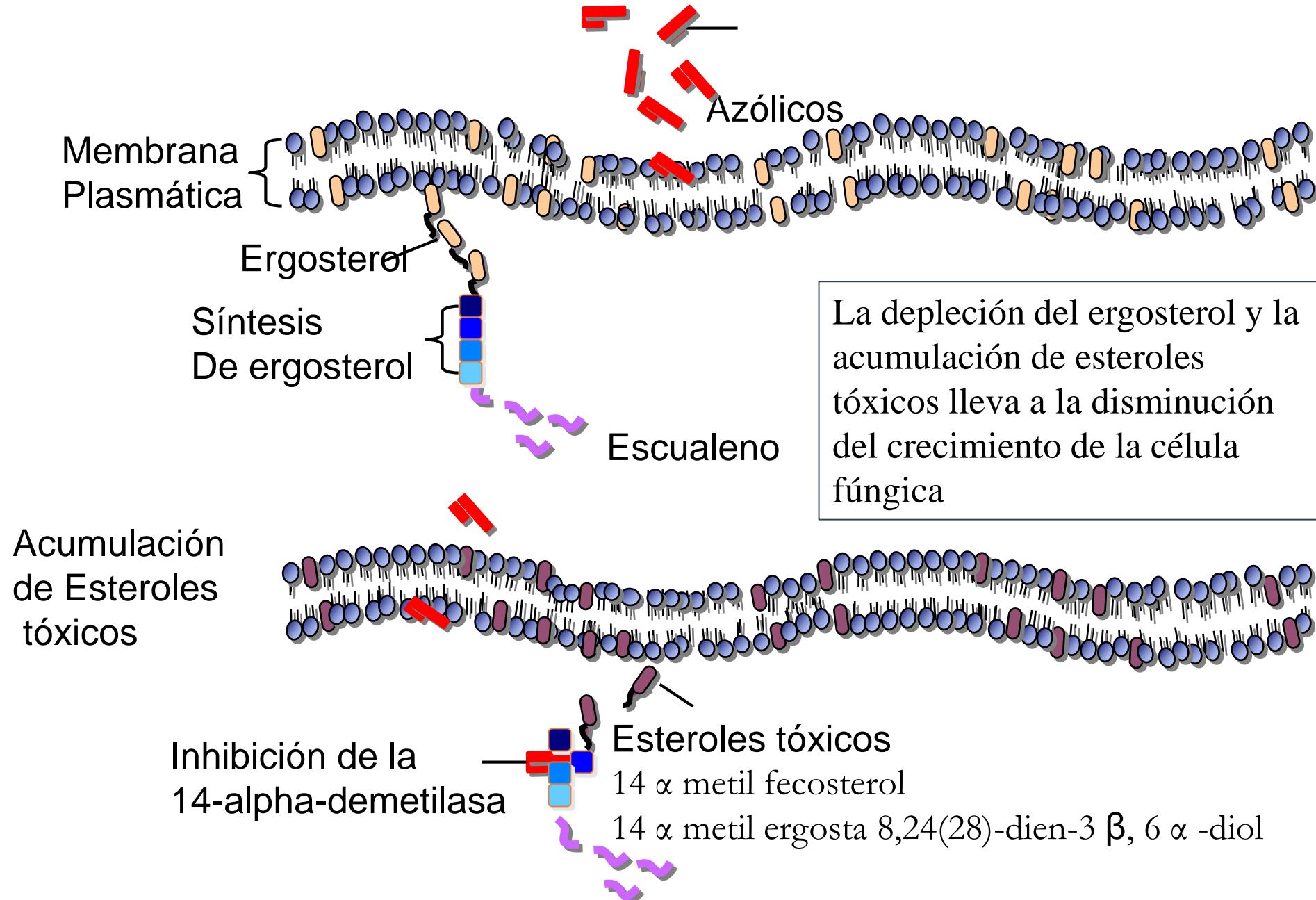
Morfolinas: amorolfina
(lacas)

Ergosterol

Δ 7-8 esterol
isomerasa

Gen *ERG 2*

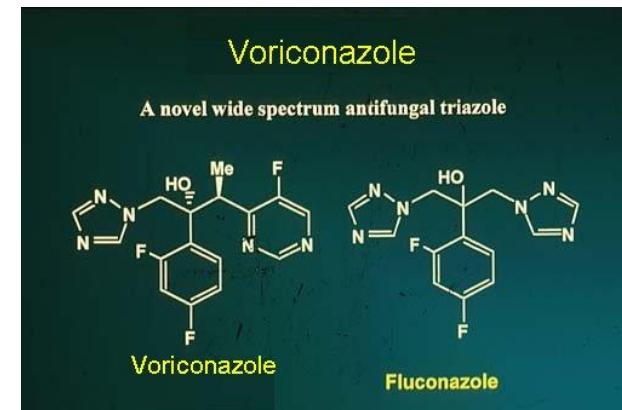
Azoles: inhibición de la síntesis del ergosterol



Azólicos

- **Imidazoles:** usados en general para tratar infecciones superficiales.
- 1. **Ketoconazol (1978):** Producto de la síntesis farmacéutica. Usado en formas sistémicas de las micosis.
 - Vía oral, alta fijación a proteínas.
 - Formas tópicas.
- 2. **Miconazol, Sertaconazol, Clotrimazol, Econazol.**
 - Formas tópicas: tratamiento de Micosis superficiales
- **Triazoles:** Fluconazol, Itraconazol, Voriconazol, Posaconazol: son aprobados para el tratamiento de formas sistémicas

Vía oral e IV



Inhibición de la síntesis del ergosterol

Alilaminas: terbinafina

Tiocarbamatos: tolnaftato

Morfolinas: amorolfina

Síntesis Ergosterol

Gen ERG 1

Alilaminas

Tiocarbamatos

Gen *ERG 1*

Escualeno

2,3 oxidoescualeno

Lanosterol 14 α
demetilasa

Gen *ERG 11*

Lanosterol



Azoles
Fluconazol
Voriconazol
Itraconazol
Morfolinas

Zymosterol

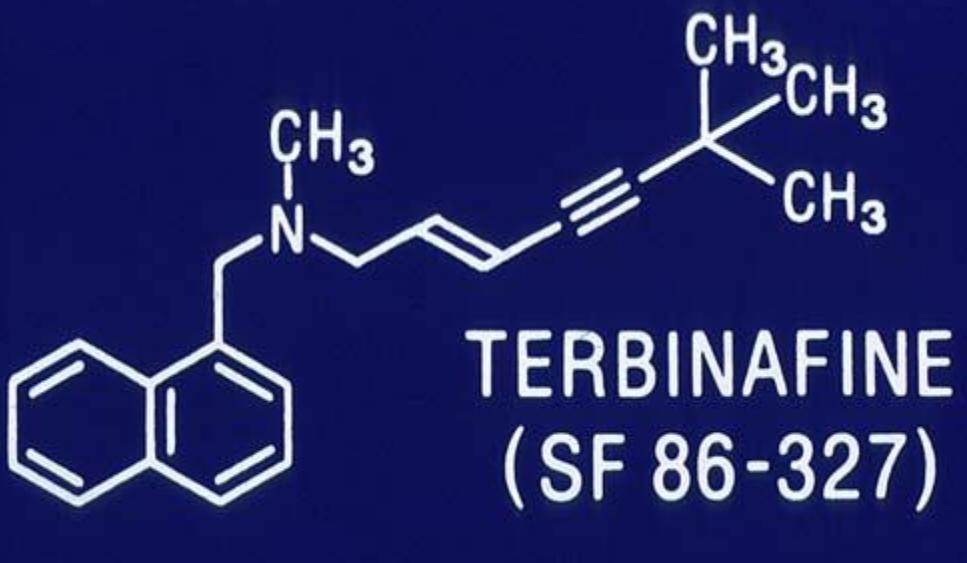
Gen *ERG 24* → Δ C-14 esterol
reductasa

Morfolinas

Δ 7-8 esterol
isomerasa

Ergosterol

Gen *ERG 2*



Alilaminas

Vía oral

Mecanismo de Acción Terbinafina

Inhibe la síntesis del ergosterol a nivel de la epoxidación del escualeno

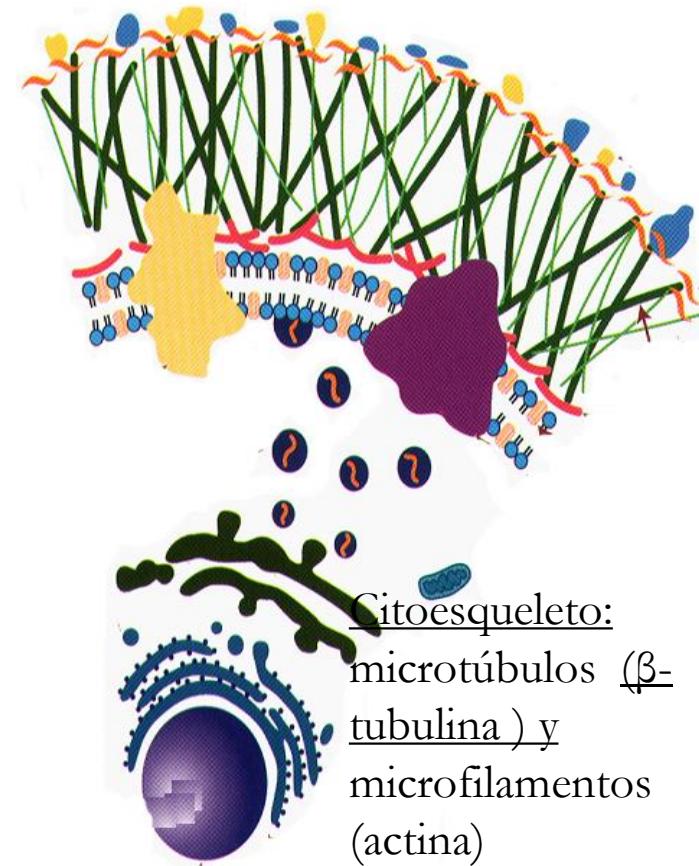
Indicado en las micosis superficiales

Se absorbe por vía digestiva

Griseofulvina: Metabolito de *Penicillium griseofulvum*

Mecanismo de acción

- Alteración de los microtúbulos.
- Inhibición de la mitosis y la replicación del DNA
- Alteración de la quitinsintetasa (por inhib. la síntesis proteica)



Citoesqueleto:
microtúbulos (β -tubulina) y
microfilamentos (actina)
Circulación de organelas y
separación de los cromosomas
en la división celular

Griseofulvina: Metabolito de *Penicillium griseofulvum*



Tinea capitis y *tinea corporis* en niños por su menor toxicidad que los azoles

Fungistático para diversas especies de dermatofitos

Se detecta en la piel 4 a 8 hs después de su administración

Candinas

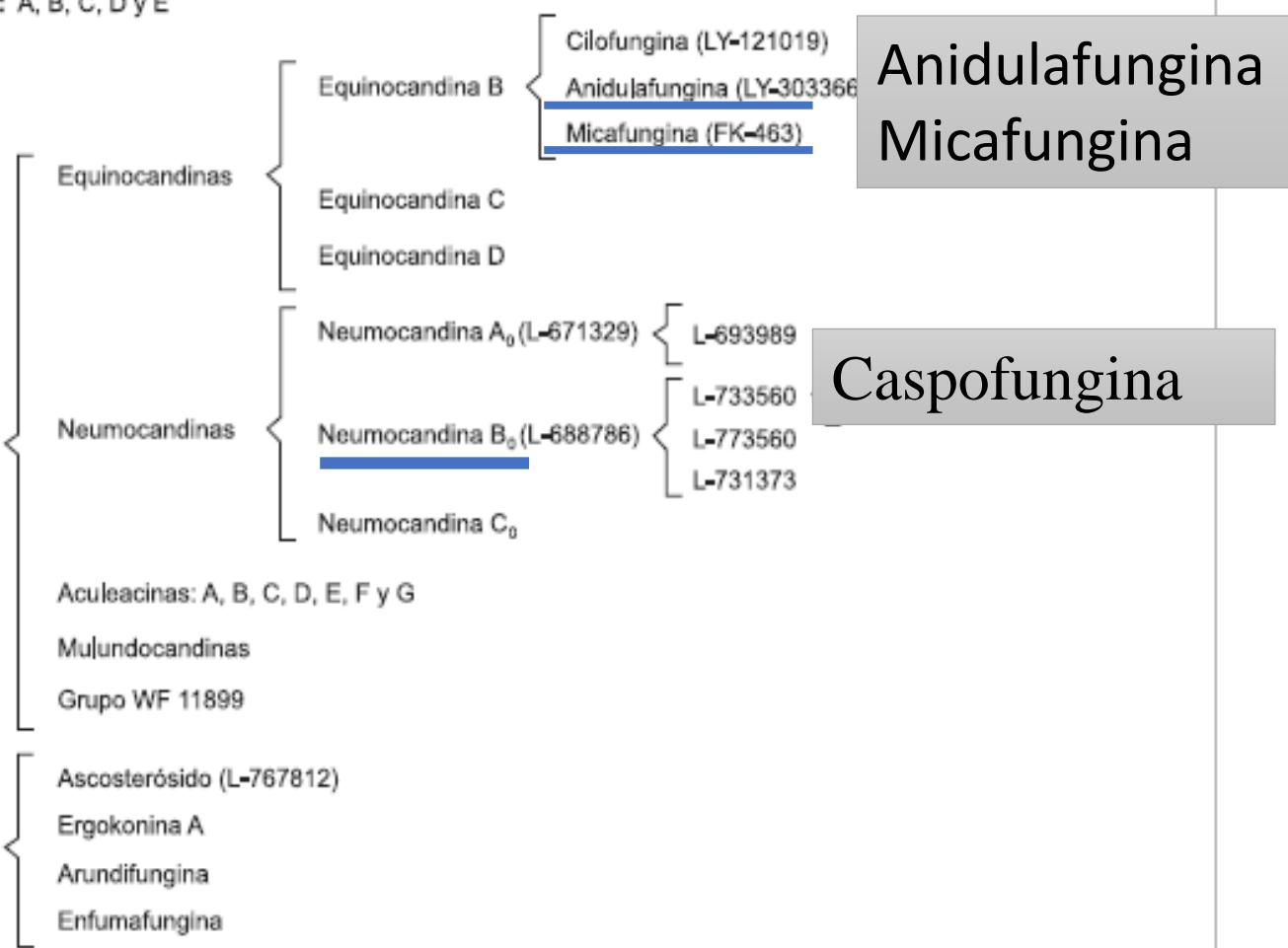
Caspofungina y Micafungina Anidulofungina

Tabla 1. Inhibidores de la síntesis de glucano.

• Papulacandinas: A, B, C, D y E

• Lipopéptidos

• Terpenoides

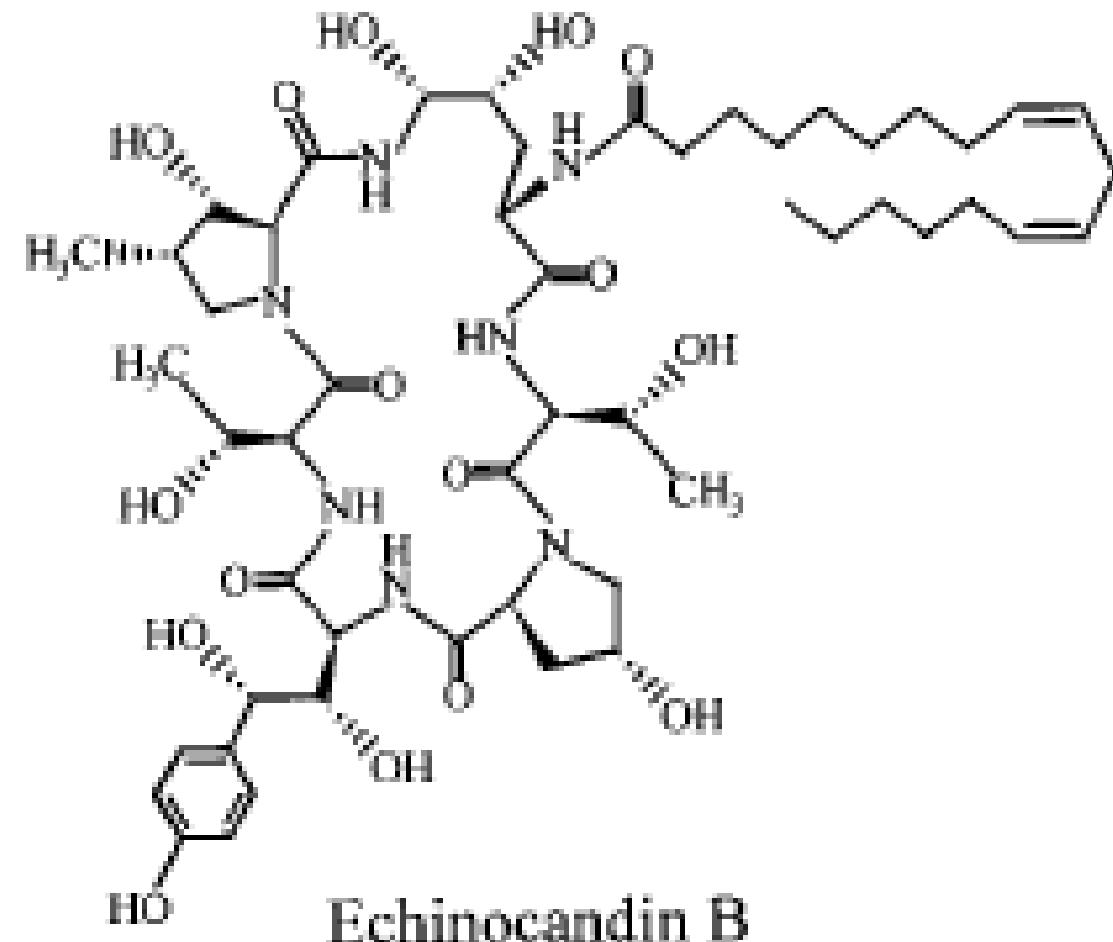


Caspofungina:

Derivado semisintético del
Glarea lozoyensis

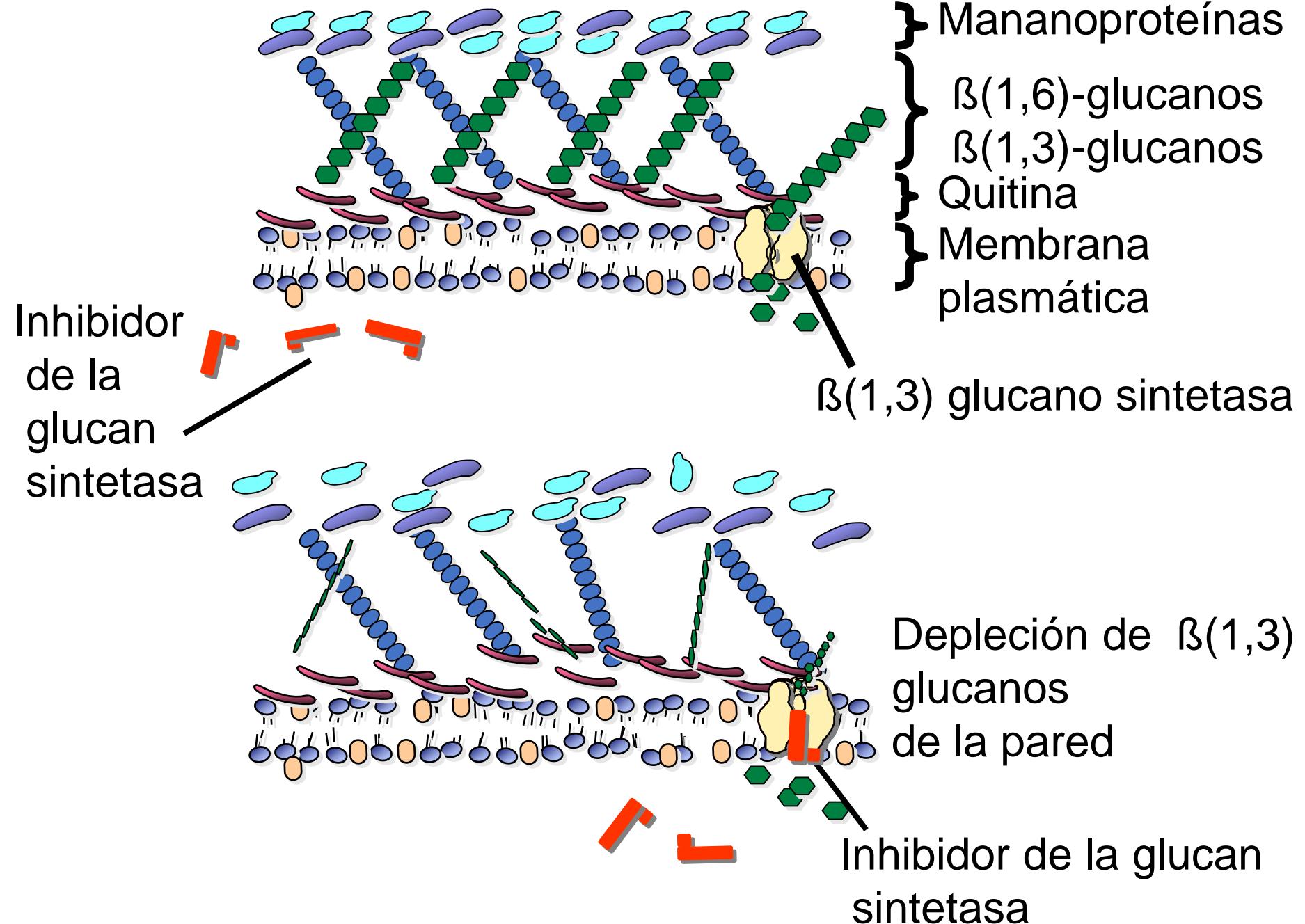
- Inhibición no competitiva de la β -(1-3)D-glucano sintetasa.

neumocandina



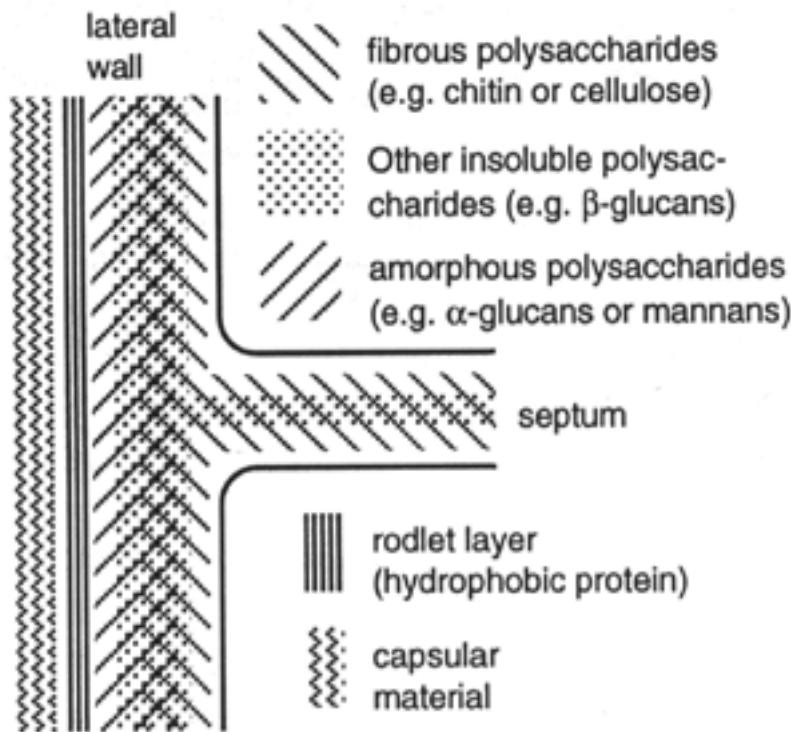
Administración IV

Mecanismo de acción: Candinas



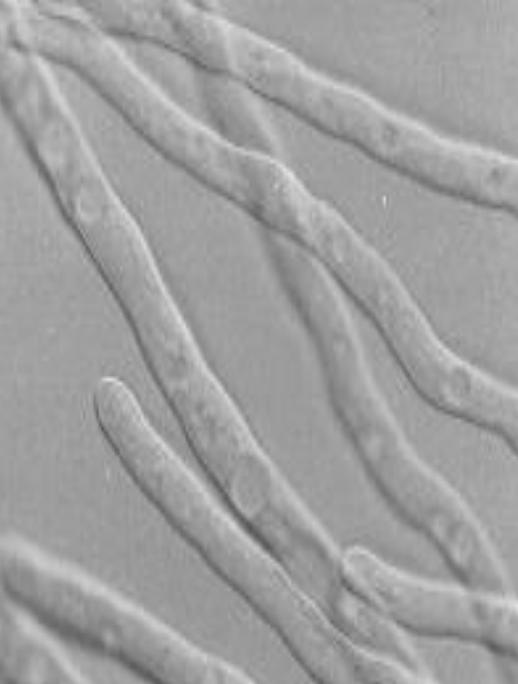
EQUINOCANDINAS:

Caspofungina



- Inhibición de síntesis β -(1-3) glucanos (de glucan sintasa)
- Actúa en los puntos de activo crecimiento y de ramificación (sitios de activa síntesis de pared en los micelios)
- En levaduras los brotes fracasan en la separación de la célula madre
- Se producen células osmóticamente sensibles

Solo endovenoso y no concentra en
LCR



Hifas sanas

Caspofungina sobre hifas
de *Aspergillus fumigatus*



hifas
aberrantes



Antifúngicos sistémicos: Opciones de administración

	Oral	IV
Fluconazol	>80 %	Si
Itraconazol	60 a70%	Si*
Voriconazol	> 80%	Si
Posaconazol	>70 %	Si**
Anfotericina B	No	Si
Caspofungina	No	Si

* No disponible en nuestro país

** Recientemente se presentó en nuestro país la formulación IV

Drogas contra *Pneumocystis jirovecii*

➤ Trimetoprima- Sulfametoazol

Combinación de drogas que actúan en forma secuencial inhibiendo la síntesis del ácido fólico (inhiben la dihidrofolato reductasa y la dihidrofolato sintetasa).

Activo contra bacterias, hongos y *P. jirovecii*

➤ Pentamidina

El mecanismo de acción es desconocido: interactúa con los fosfolípidos de membrana, inhibición de ARN y ADN. Inhibición de topoisomerasas.

Indicaciones: *P. jirovecii* (*nebulizaciones*), tripanosomiasis, leishmaniasis

Antifúngicos

- Nuevos antifúngicos
- Combinaciones de antifúngico
- Con antifúngicos: bloqueo de dos o más mecanismos antifúngicos. Sinergia.
- Estrategias inmunomoduladoras



•Combinaciones de Antifúngicos

- Inhibición de distintas enzimas en la misma ruta metabólica (azoles y terbinafina).
- Aumento de la penetración de un compuesto como consecuencia de la acción permeabilizadora de otro en la pared o la membrana celular (AmB y 5-FC).
- Inhibición simultánea de distintas dianas de la célula fúngica (caspofungina y AmB)



Estrategias Inmunomoduladoras-tratamiento adyuvante en las micosis

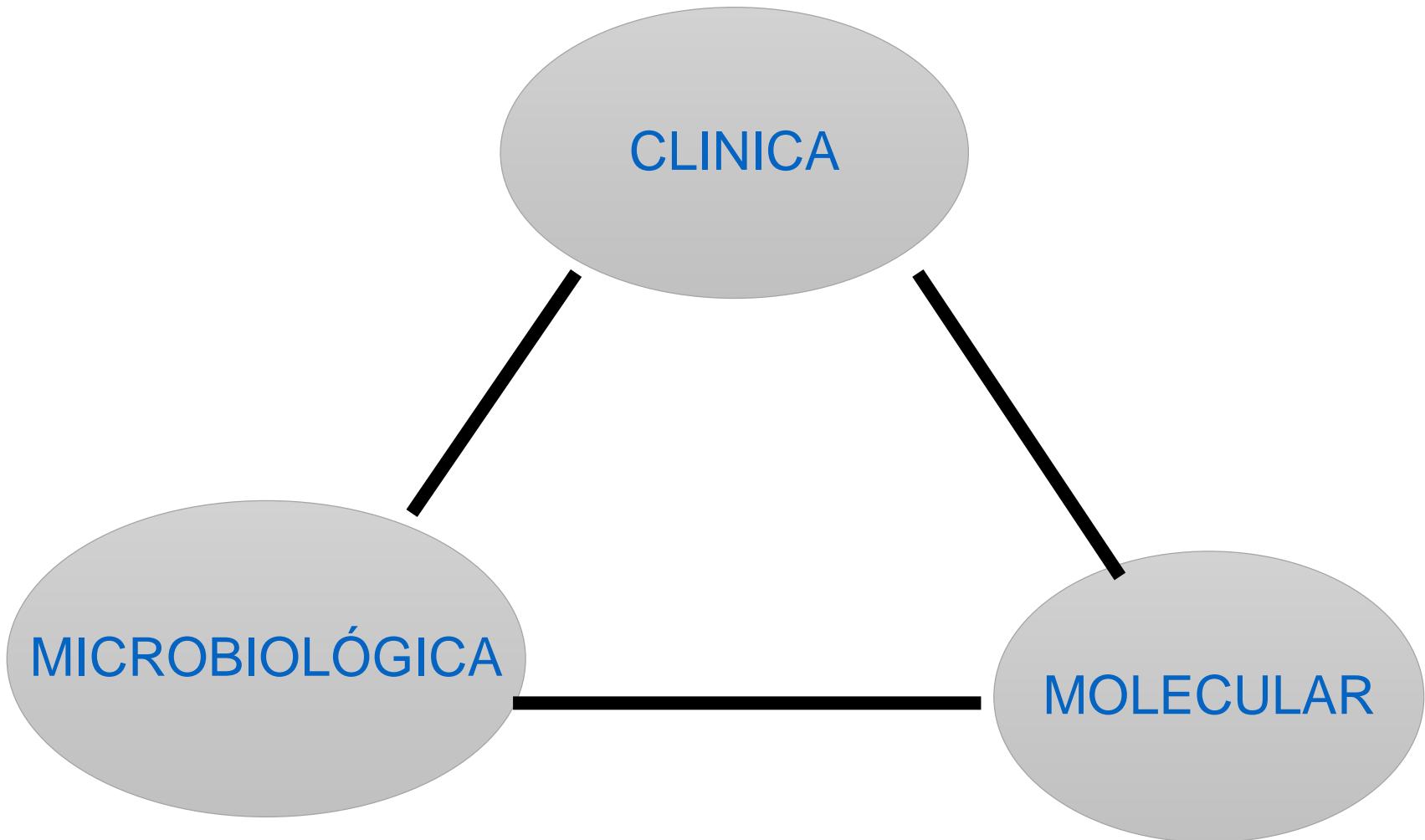
Tratamiento inmuno-modulador	Agente	Mecanismo	Aplicación/micosis	Estado	Ref.
Citocinas	rIFN- γ	Activación de mecanismos fungicidas en los macrófagos	Se evaluó como terapia adyuvante en la criptococosis meníngea en pacientes VIH+ Micosis invasoras refractarias	Fase II Reporte de series de casos	41,42 43
	GM-CSF	Acelera la mielopoyesis, aumenta el número de neutrófilos, su acción fagocítica y fungicida. Activa monocitos y macrófagos	Se usó como profilaxis en pacientes neutropénicos oncológicos, y redujo el porcentaje de infecciones fúngicas fatales	Fase III	44,45
AcM	18B7	IgG1 de ratón dirigido contra el polisacárido capsular de <i>Cryptococcus neoformans</i> . Aumenta la opsonización, y la eliminación del glucoroxilomanan soluble	Criptococosis meníngea	Fase I y fase preclínica	46,47
	Mycograb	Dirigido contra la HSP90 de <i>Candida</i>	Evaluado en pacientes con candidiasis invasoras	*Retirado en el 2010 de los estudios clínicos	48
Terapia celular	Transferencia adoptiva de LT	Transferencia de clones de LT CD4+ específicos contra Ags de <i>Aspergillus</i> . Producen concentraciones altas de IFN- γ y bajas de IL10	Se evaluó en receptores de trasplante de células madre haploidénticas en riesgo de aspergilosis invasoras	Clínico	49
	Granulocitoférésis	Incrementa el número de PMN maduros en circulación	Pacientes neutropénicos oncológicos o con trasplante de células madre hematopoyéticas	Fase I/II	50

AcM: anticuerpos monoclonales; rIFN- γ : Interferón gamma recombinante, GM-CSF: factor estimulante de colonias granulocito/macrófago; HSP90: proteína de choque térmico de 90KD; IL: interleucina; LT: linfocitos T; PMN: polimorfonuclear neutrófilo; VIH: virus de la inmunodeficiencia humana.

A microscopic image showing several fungal cells. The cells have large, dark blue, circular nuclei and a surrounding cytoplasm stained pink. Some cells are elongated with visible internal structures, while others are more rounded. The background is a light purple color.

➤ Mecanismos de
resistencia a los
antifúngicos

RESISTENCIA es..



Resistencia clínica.

■ Huésped

Respuesta immune: inmunidad innata- adaptativa

Sitio de infección: lugar, formación de abscesos, presencia de necrosis, pH y anaerobiosis

■ Hongo

Tamaño y tipo de inóculo

*levadura / hifa

Producción de biofilm

Estabilidad genómica

Población “cuello de botella”

■ Droga

Dosis

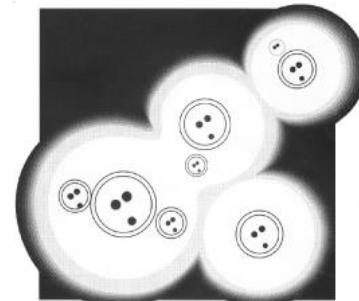
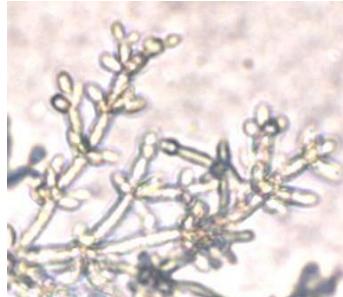
Farmacocinética

Interacciones droga-droga

INTRÍNSECA- NATURAL INSENSIBILIDAD

Ningún miembro de la especie fúngica es sensible.

Candida krusei es resistente intrínseca al fluconazol



PRIMARIA

Una especie normalmente sensible posee una resistencia natural a la droga y NUNCA tuvo contacto con la droga

SECUNDARIA o ADQUIRIDA

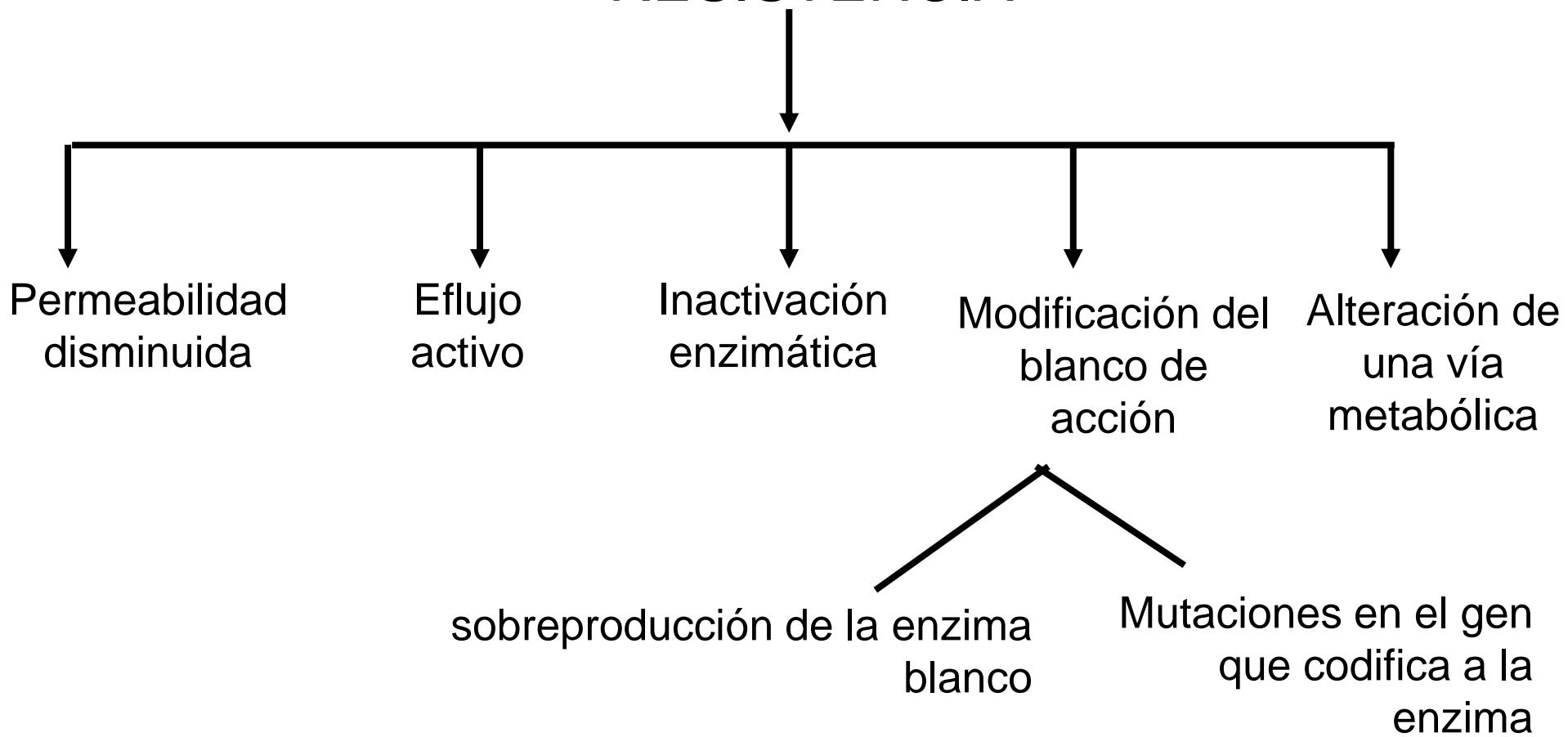
Cepa previamente sensible adquiere resistencia después del tratamiento con el ANTIFÚNGICO



RESISTENCIA A LOS ANTIFUNGICOS

MECANISMOS GENERALES DE

RESISTENCIA



Síntesis Ergosterol

Gen ERG 1

Alilaminas

Tiocarbamatos

Gen *ERG 1*

Escualeno

2,3 oxidoescualeno

Lanosterol 14 α
demetilasa

Gen *ERG 11*

Lanosterol



Azoles
Fluconazol

Voriconazol

Itraconazol

Morfolinas

Zymosterol

Δ C-14 esterol
reductasa

Gen *ERG 24*

Morfolinas

Δ 7-8 esterol
isomerasa

Ergosterol

Gen *ERG 2*

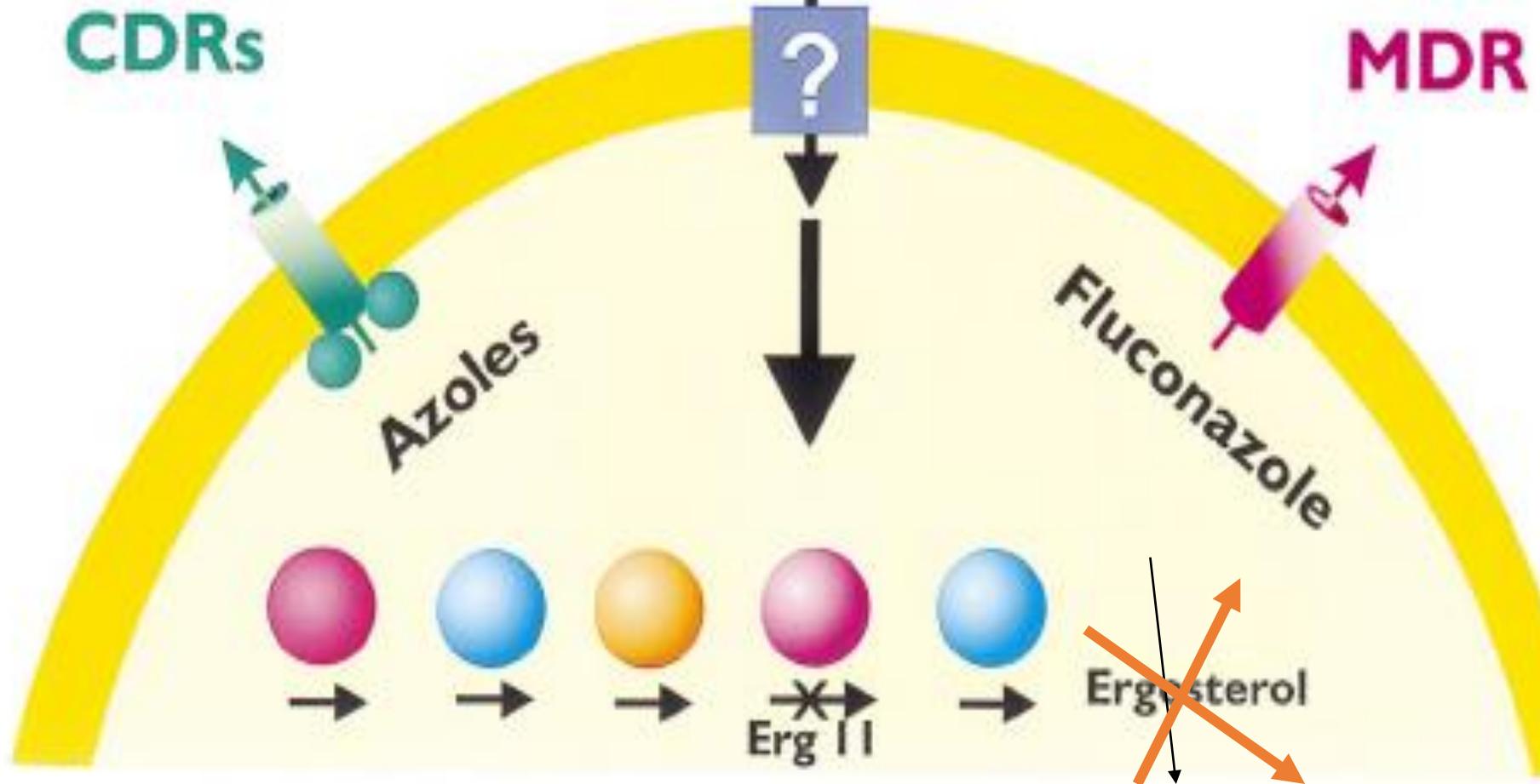
Mecanismo molecular de la resistencia

Cepa sensible

ABC: ATP Binding Cassette

Azoles

MF: Major facilitators



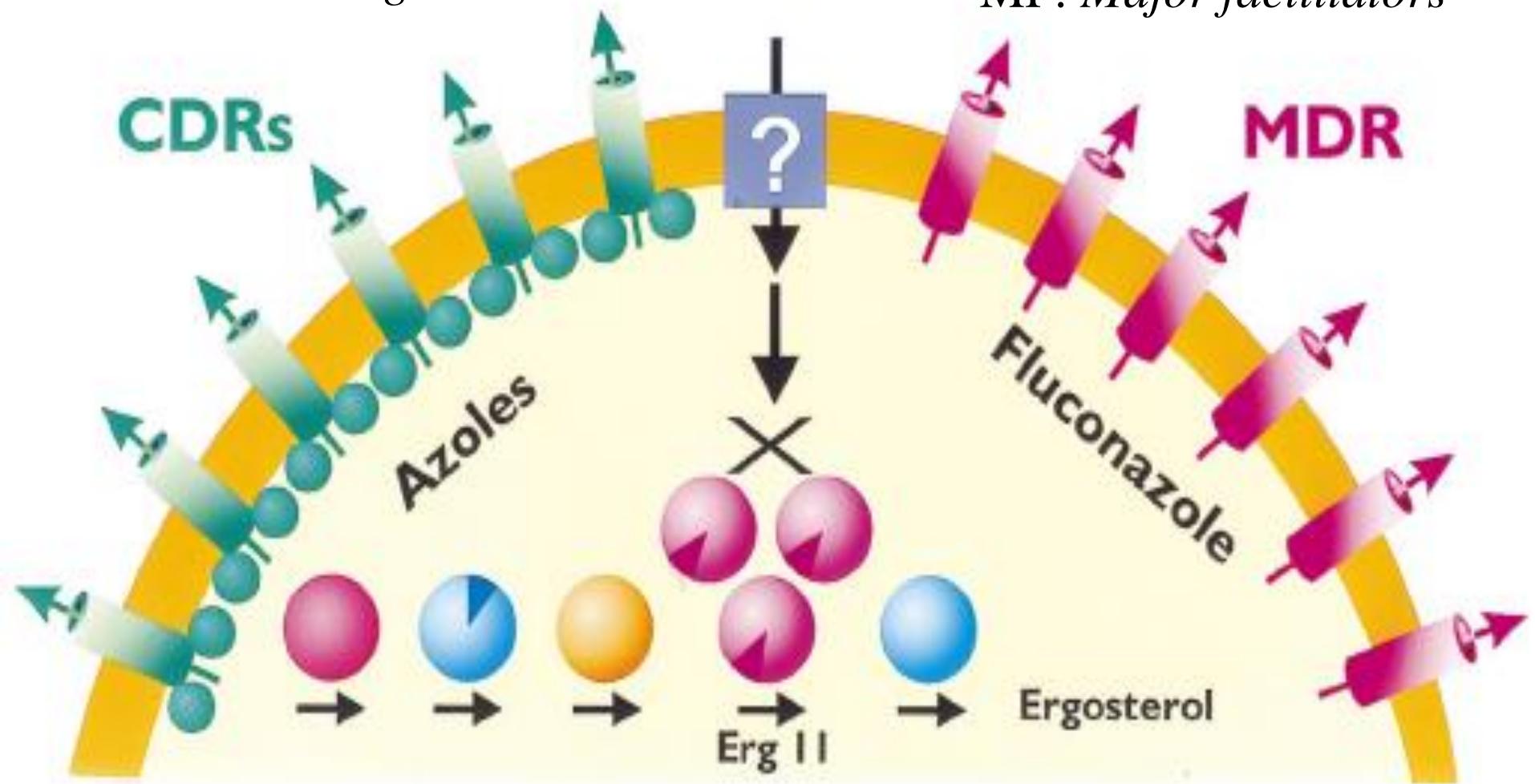
Mecanismo molecular de la resistencia

Cepa resistente

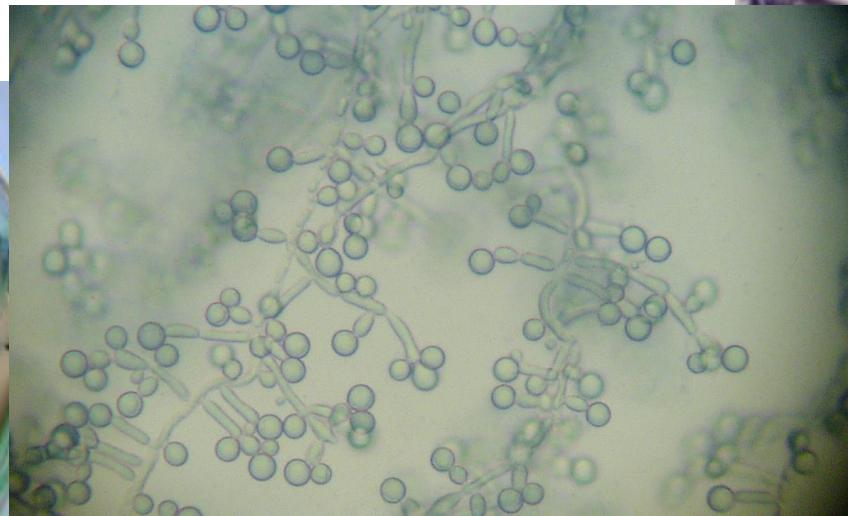
Azoles

ABC: ATP Binding Cassette

MF: Major facilitators



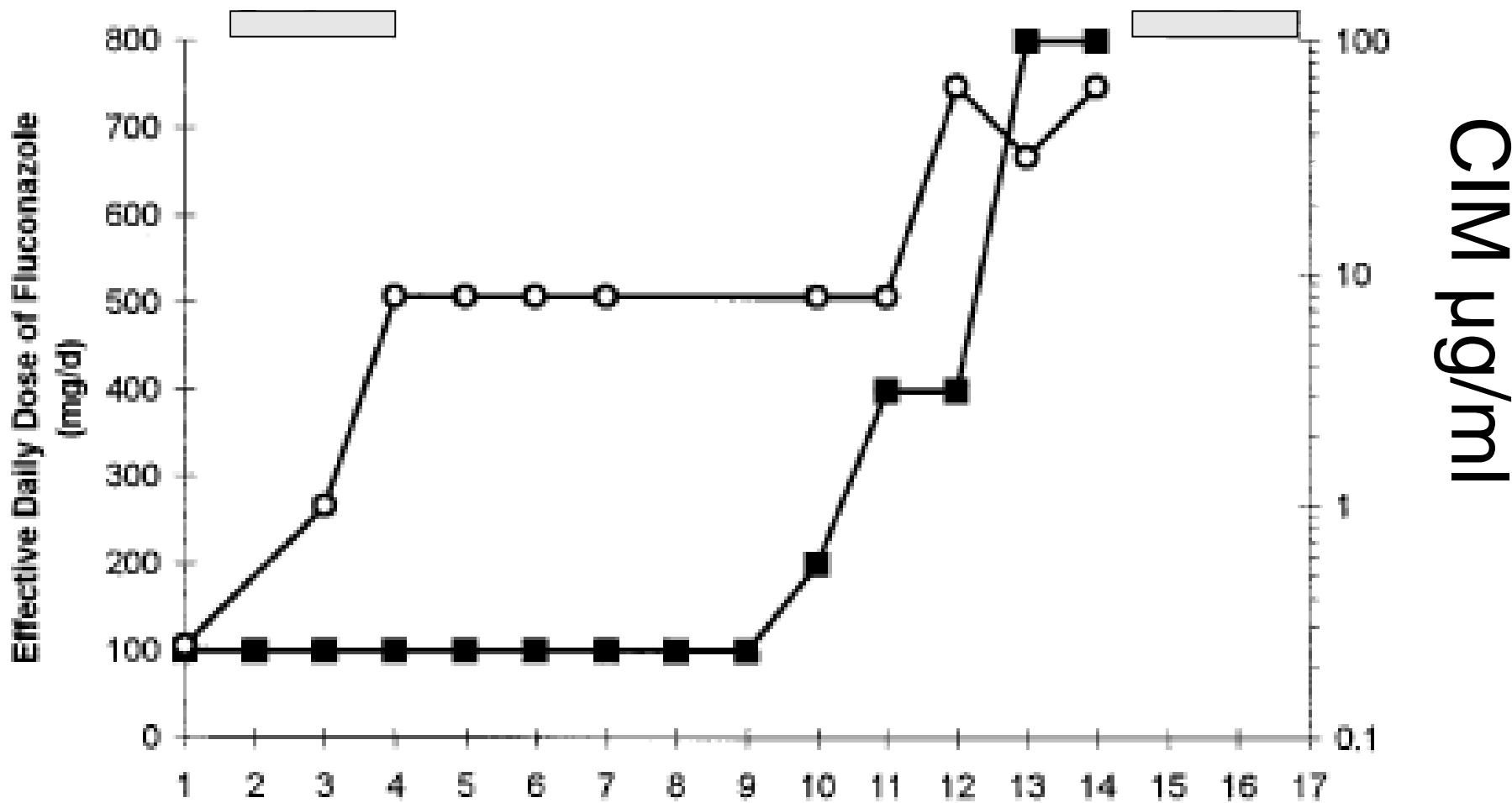
Candidiasis



C. albicans

Incremento de MDR m RNA

Incremento de CDR m RNA



Combinatoria de Mecanismos: R
Episodio de candidiasis orofaríngea

Aspectos Moleculares de la Resistencia a los Azoles

- Mutaciones puntuales del gen ERG11
⇒ Altera 14 α lanosterol demetilasa
- Sobre-expresión del gen ERG11
⇒ Incrementa la producción de 14 α lanosterol demetilasa
- Incremento en nivel de mRNA de los genes (CDR1 or MDR1 genes) que codifican para las bombas de eflujos
⇒ Disminución de la acumulación del azol en la célula fúngica

Resistencia a Azoles

- Bien conocida particularmente en fluconazol
- Es un problema clínico

RESISTENCIA AL FLUCONAZOL

INTRINSECA ó *C. krusei*, *C. norvegensis*, *P. jirovecii*

INSENSIBILIDAD *Aspergillus*, *Fusarium*, Mucorales

PRIMARIA

C. glabrata

C. albicans ó
C. dubliniensis + Sida

SECUNDARIA

C. albicans

Resistencia cruzada con
fluconazol y otros azoles

C. dubliniensis.

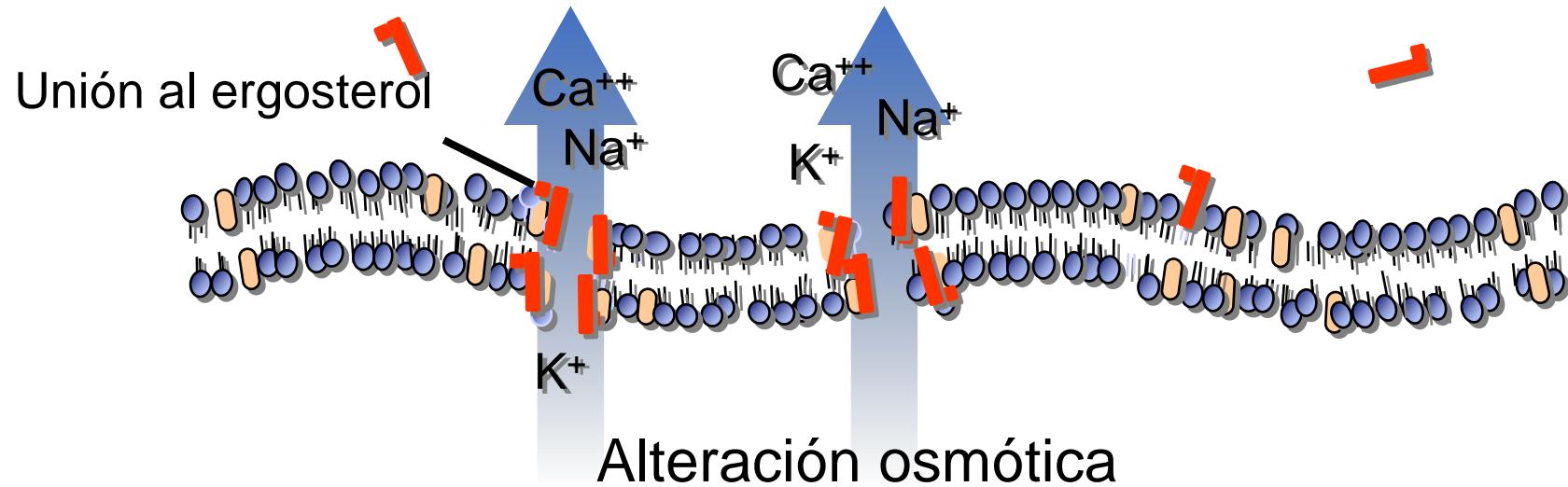
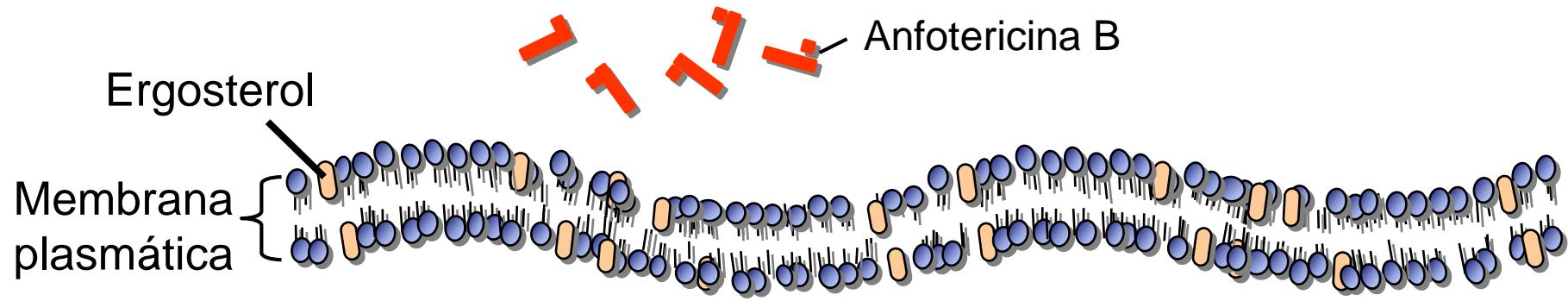
RESISTENCIA A LOS AZOLES



Aspergillus

Al Fluconazol es innata
Al Itraconazol
Por sobreexpresión de bombas
de eflujos, por modificación de
la enzima 14 α lanosterol
demetilasa. (sustituciones en:
M220 posición incremento en el
MIC a los azoles, G54 R
cruzada a Itraconazol y
posaconazol)

Mecanismo de acción: Unión al ergosterol y formación de poros transmembrana: anfotericina B



Mecanismos de la resistencia a Anfotericina B

- Disminución del contenido del ergosterol en la membrana
- Alteraciones en el contenido de esterol (fecosterol, episterol: de reducida afinidad)
- Alteraciones en la proporción esterol a fosfolípidos
- Reorientación o enmascaramiento del ergosterol
- Previa exposición a azoles

Resistencia a Anfotericina B

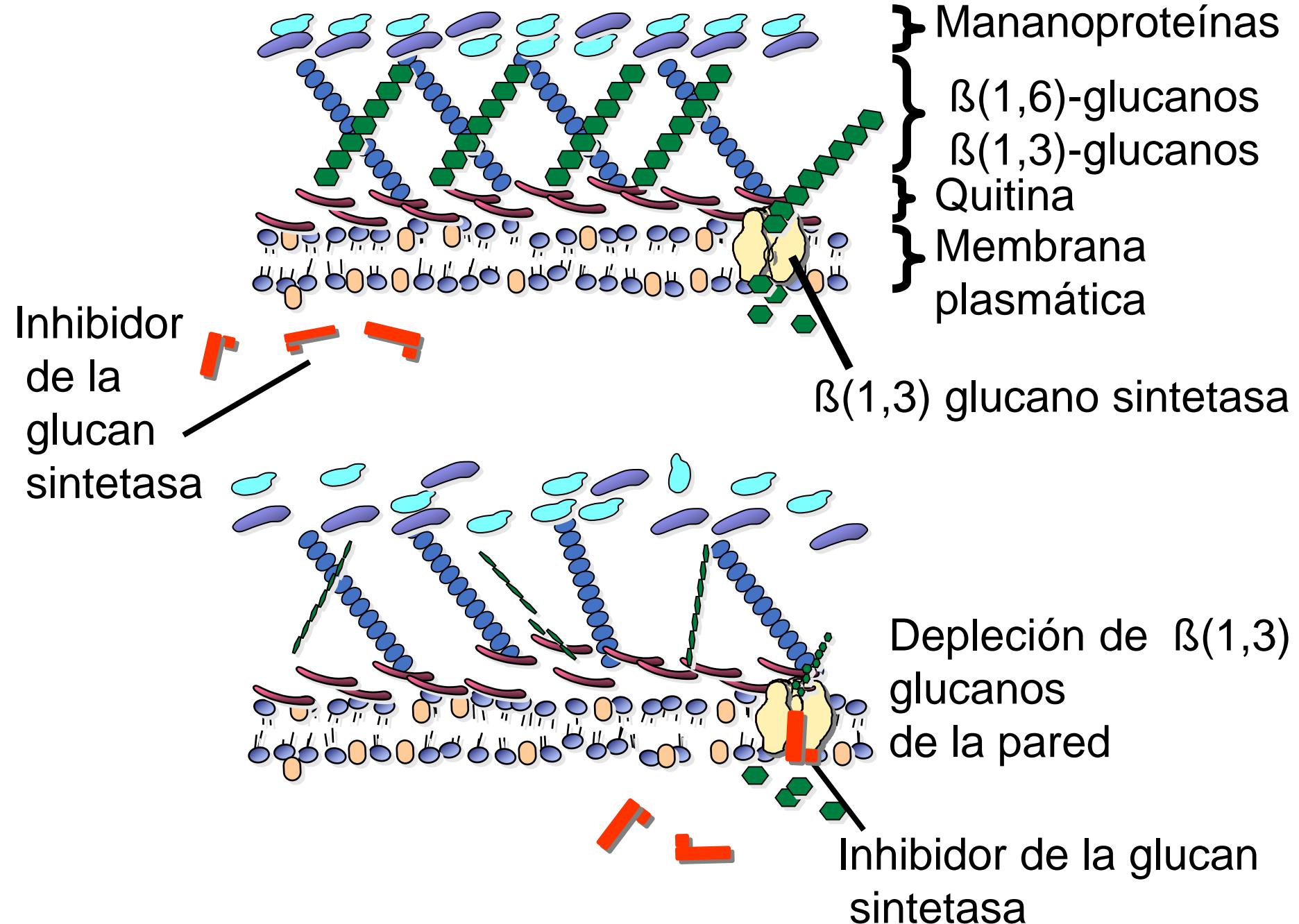
- Existe dificultades técnicas en la detección de la resistencia *in vitro*
- Resistencia *in vivo* es rara
 - Hongos con susceptibilidad reducida a AMB
 - C. lusitaniae*, *C. krusei*
 - C. neoformans* (algunos aislamientos)
 - Trichosporon spp.*
 - A. terreus*
 - S. apiosperma*
 - Fusarium spp.*
 - ...

Anfotericina B

Resistencia secundaria

Es muy baja

Mecanismo de acción: Candinas



Resistencia a las equinocandinas

- Mutación en el gen *FSK1*
- Mutación en el gen *FSK2*

Intrínseca o Insensible : *C. neoformans*

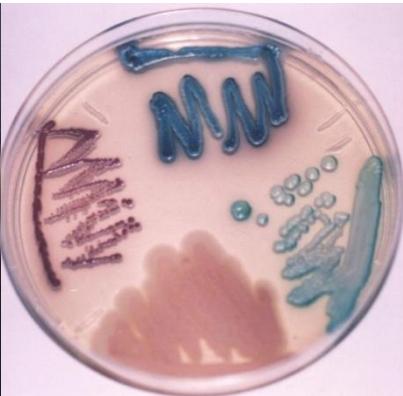
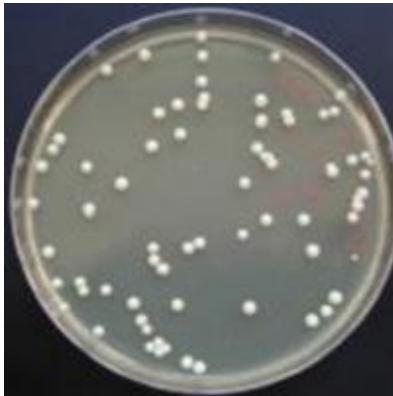
SECUNDARIA

Factor de riesgo común en los
aislamientos previa exposición a
equinocadina. *C. glabrata*

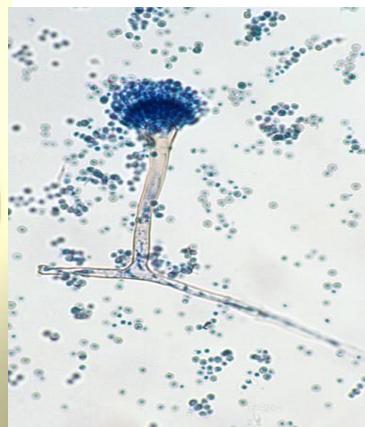
Antimicrob. Agents Chemotherp. 2014 (58) 4690 – 4696

C. parapsilosis exhibe valores CIM a
equinocandinas elevados pero con respuesta
terapéutica

Métodos de Determinación de Susceptibilidad a los Antifúngicos



➤ Métodos de dilución



➤ Métodos de difusión

COMO DIFERENCIAMOS UN AISLAMIENTO FÚNGICO SUSCEPTIBLE DE UNO RESISTENTE A UN ANTIFÚNGICO ?

Técnicas para realizar estudios de sensibilidad (*in vitro*)

Métodos de dilución: CIM

- NCCLS Doc. M27-A3 (CLSI) para levaduras (2008).
- Documento EUCAST para levaduras (2002)
- NCCLS Doc. M38-A para hongos filamentosos (2002). CLSI

Métodos de difusión

- E-test (AB biodisk)
- Tabletas Rosco (Rosco Diagnostica)
- NCCLS M44-A. CLSI

Métodos colorimétricos

- YeastOne (Trek Diagnostic System)
- Fungitest (Biorad)

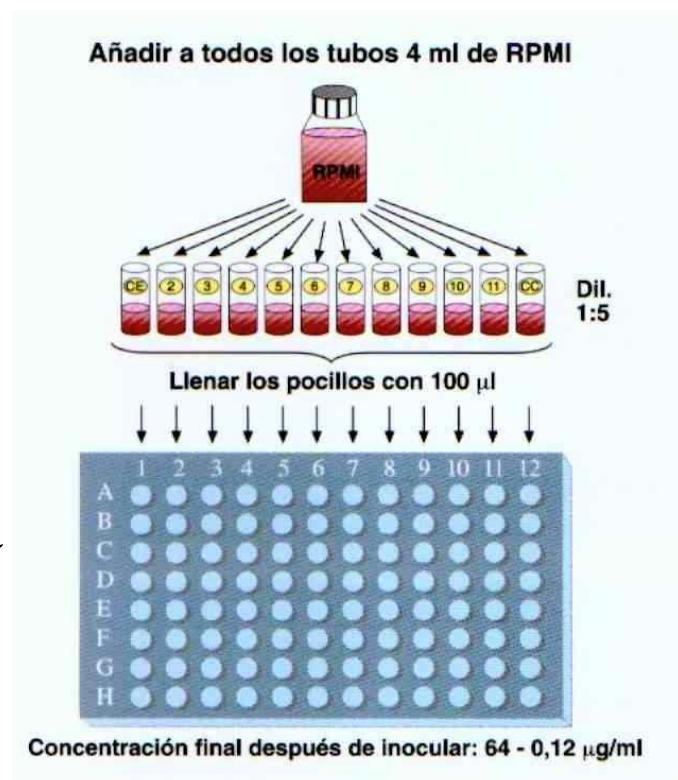
METODO DE DILUCION

Método de referencia

Incubación:

Candida spp 24- 48 hs
a 35°C

Cryptococcus 72 hs a
30°C



- 11: Control Crecimiento (Inóculo)
- 12: Control de Esterilidad (Antifúngico)

Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)

Es la menor concentración del ATF en µg/ml capaz de: inhibir el crecimiento o inhibir el desarrollo fúngico al 50% respecto del control de crecimiento.

Puntos de cortes para pruebas de sensibilidad en levaduras

Antifúngico	S	S-DD	R
Fluconazol ^b	≤ 2	4	≥ 8
Itraconazol	$\leq 0,125$	0,25-0,5	≥ 1
Fluocitosina	≤ 4	8-16	≥ 32
Anfotericina B	≤ 1		≥ 2
Voriconazol	≤ 1	2	≥ 4
Equinocandinas	$\leq 0,25^c$	0,5	≥ 1



ISBN 1-56238-863-0 (Print)
ISBN 1-56238-864-9 (Electronic)
ISSN 1558-6502 (Print)
ISSN 2162-2914 (Electronic)

M27-S4
Vol. 32 No. 17
Replaces M27-S3
Vol. 28 No. 15

Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts; Fourth Informational Supplement

Volume 32 Number 17

^aRecomendado por CLSI (Pfaller *et. al.*, 2010)

^b*C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*. Para *C. glabrata* S-DD $\leq 32 \mu\text{g}/\text{ml}$ y R $\geq 64-32 \mu\text{g}/\text{ml}$.

^c *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* en $\mu\text{g}/\text{ml}$. Para *C. parapsilosis* ≤ 2 (S), 4 (S-DD) y ≥ 8 (R). Puntos de cortes a la caspofungina en *C. glabrata* $\leq 0,12$ (S), 0,25 (I) y $\geq 0,5$ (R) (Pfaller *et. al.*, 2011).

M38-A2
Vol. 28 No. 16
Replaces M38-A
Vol. 22 No. 16



CLINICAL AND
LABORATORY
STANDARDS
INSTITUTE®

Reference Method for Broth Dilution
Antifungal Susceptibility Testing of
Filamentous Fungi; Approved Standard—
Second Edition

Propuestas de puntos de corte para AMB, ITZ, POSA, VCZ, y CASPO.

- Sensibles CIM o MEC ≤ 1 mg/L
 - Intermedio CIM o MEC 2 mg/L
 - Resistente CIM o MEC ≥ 4 mg/L
-
- Para *Aspergillus* spp., ITZ, POSA, VCZ, AMB y CASPO.
 - *Scedosporium apiospermum*, *Paecilomyces lilacinus*, POSA, VCZ.
 - *Alternaria* spp., *Bipolaris spicifera*, ITZ, POSA, VCZ.
 - *Mucoromycetes* spp., AMB y POSA.



S-DD

Sensibilidad frente al fluconazol

Método de difusión con disco



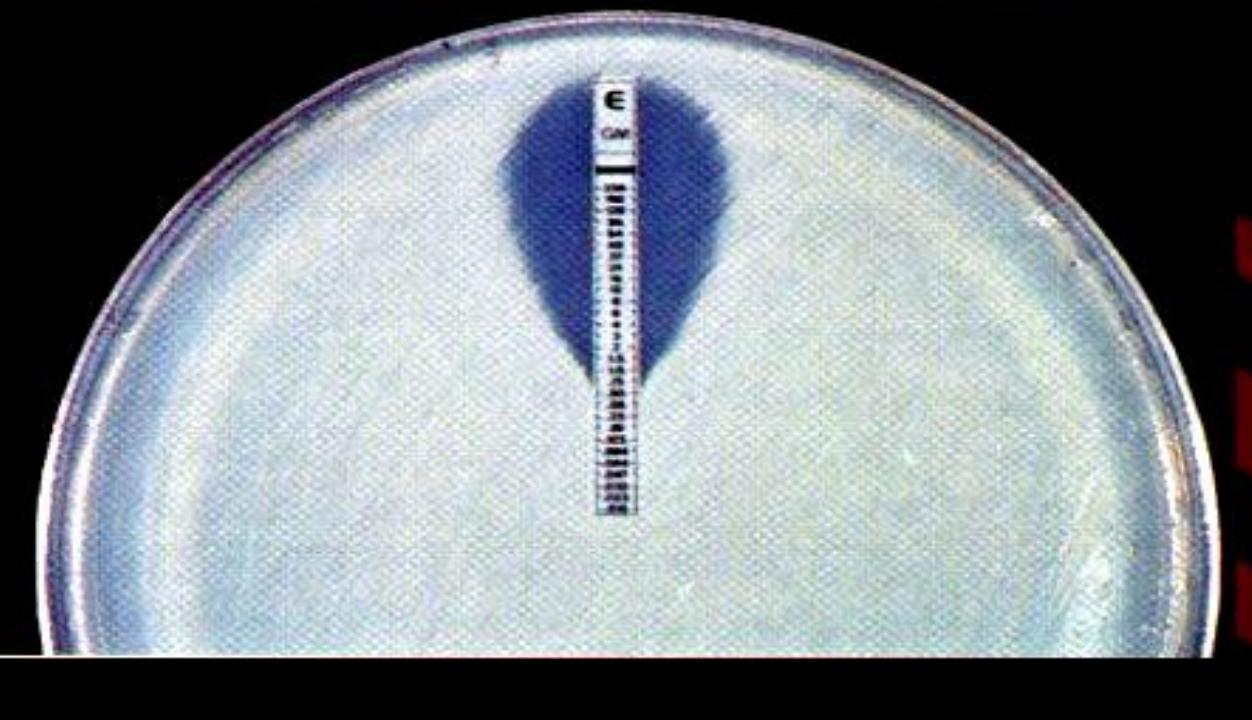
Sensible

C. albicans, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*, S, $\leq 2\text{g/ml}$ ($\geq 17\text{ mm}$).
SDD, 4g/ml ($14\text{-}16\text{ mm}$).

R, $\geq 8\text{g/ml}$ ($\leq 13\text{mm}$).

C. glabrata, SDD, $\leq 32\text{g/ml}$ ($\geq 15\text{ mm}$).

R, $\geq 64\text{g/ml}$ ($\leq 14\text{ mm}$).



Gradiente
de concentraciones
en la tira
 $\mu\text{g}/\text{ml}$

E-Test

La diferencia con el disco, es que el disco contiene una sola concentración

Aspergillus fumigatus



Candida krusei
ATCC 6258



Voriconazole

Disk zone diam = 45 mm

MIC = 0.125 ug/ml

Mueller-Hinton glucose methylene blue medium.
Voriconazole disks 10 ug/ml, read at 48 hours.

Voriconazole

Disk zone diam = 36 mm

MIC = 0.25 ug/ml

Sensibilidad antifúngica

- ❖ NO se realiza de rutina.
- ❖ Es IMPORTANTE identificar las levaduras y hongos filamentosos (genero y especie) para identificar la RESISTENCIA (R) INTRÍNSECA o INSENSIBILIDAD.
- ❖ MÉTODOS: Dilución Micrométodos macrométodos (CIM).

Determinan la R
Adquirida

Difusión en disco, tabletas, E-test

Métodos comerciales

Relación *in vitro / in vivo*

RESPUESTA
TERAPÉUTICA

MICROORGANISMO

HUÉSPED

Mec. Innato

Mec. Adquiridos

Localización de la
infección

En la infección

Gran número de
microorganismos

ANTIFÚNGICO

Concentración en los distintos tejidos

Concentración fluctuante del fármaco

Relación *in-vivo / in-vitro*

- **Condiciones estandarizadas de laboratorio:**

- Fase constante de crecimiento del microorganismo
- Condiciones fijas de pH, temperatura, humedad y concentración de O₂.
- Exposición constante de un número pequeño de microorganismos (10³-10⁶ UFC/mL).
- Concentraciones constantes del antimicrobiano.

- **Condiciones en la infección:**

- Gran número de microorganismos (10⁹ UFC/mL).
- Concentraciones fluctuantes del fármaco.
- Concentración del fármaco en los distintos tejidos
- Factores del huésped.

Correlación in vitro / in vivo

- CIM: no es una medición física ni química
- Los factores del huésped resultan mas importante que los ensayos de susceptibilidad en predecir el curso clínico
- La susceptibilidad de un microorganismo no predice el éxito de la terapia
- La resistencia *in vitro* puede predecir falla terapéutica

Prevención y control de la resistencia a los antifúngicos

- Tratamiento con el antifúngico apropiado.
- Uso racional de los antifúngicos.
- Dosis apropiada y evitar las sub-optimas.
- Estudios de vigilancia epidemiológica.
- Uso de combinaciones de antifúngicos.
- Nuevas estrategias

Preguntas

Pneumocystis jirovecii es considerado actualmente un hongo sin embargo, no es susceptibles a los azoles y anfotericina B a que se debe esto? Porque otra clase de antifúngicos y antibacterianos pueden ser usados para tratar la neumonía que produce?

Un paciente presenta una Candidiasis invasora por un aislamiento sensible de *Candida albicans* al fluconazol, sin embargo no se observa una respuesta al tratamiento con esta droga (con la dosis requerida). Porque?



Muchas Gracias

