

Candidiasis vulvovaginal en un grupo mujeres gestantes de Medellín

Vulvovaginal candidiasis in a group of pregnant women from Medellín

Clara María Duque^{1,2}, Olga Lucía Uribe^{2,3}, Andrés Felipe Soto¹, Juan Alarcón¹

Resumen

Introducción. En la mujer embarazada, factores como la carga hormonal y los altos niveles de glucogéno favorecen la colonización y la infección vaginal por levaduras.

Objetivo. Determinar la prevalencia de levaduras del género *Candida*, aisladas de muestras de flujo vaginal de un grupo de mujeres embarazadas de la ciudad de Medellín y evaluar la sensibilidad a los antifúngicos.

Materiales y métodos. Estudio descriptivo en el cual se estudiaron 300 mujeres gestantes que acudieron a los programas de control prenatal de diferentes IPS de Medellín, en el período de febrero de 2006 a junio de 2007. Se determinó la prevalencia de *Candida* spp. mediante cultivo e identificación de las levaduras obtenidas, y se determinó la sensibilidad a fluconazol e itraconazol por el método comercial del *ATB fungus*. A las cepas en las que se evidenció crecimiento residual en flu-

conazol por dicho método, se les realizó anti-biograma por los métodos avalados por el *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) microdilución M27-A y método de difusión en disco M-44P.

Resultados. La prevalencia de *Candida* spp. fue de 33,3% (*C. albicans*, 77%; *C. parapsilosis*, 11%; *C. tropicalis*, 5%; *C. glabrata*, 3%; *C. guilliermondii*, 2%; *C. kefyr*, 1%, y *C. famata*, 1%). Todos los aislamientos mostraron sensibilidad al fluconazol. Se halló resistencia al itraconazol en 9% de los aislamientos de *C. albicans* y en 100% de los de *C. glabrata*. El 2,5% de los aislamientos de *C. albicans* y el 100% de los de *C. kefyr* resultaron sensibles dependiente de la dosis a dicho antifúngico.

Conclusiones. *C. albicans* fue la levadura más frecuentemente aislada de flujo vaginal, seguida por patógenos emergentes, como *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*. En la población estudiada, las levaduras del género *Candida* son aún ampliamente sensibles a los antifúngicos.

1 Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia,
2 Grupo de Investigación Biociencias, Medellín, Colombia
3 Decana, Facultad de Ciencias de la Salud,
Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia.

Correspondencia:

Clara M. Duque, Calle 65 N 77 126 Medellín, Tel
422 52 52 ext. 155. andresnatalia@une.net.co

Recibido: 03/04/2008; Aceptado: 05/02/2009

Se recomienda la identificación de la levadura a nivel de especie y hacer pruebas de sensibilidad en el caso de falla terapéutica y en infecciones recidivantes

Palabras clave: candidiasis, embarazo, resistencia antifúngica, antifúngicos, *Candida*

Abstract

During pregnancy, risk factors such as the high hormonal load and high levels of glucogen allow vaginal colonization and infection by yeasts.

Objective: To determine the prevalence of *Candida* spp. isolated from samples of vaginal discharge from pregnant women in Medellín and to test their sensitivity to antimycotic agents.

Materials and methods: Descriptive study in which 300 pregnant women were tested between February 2006 to June 2007. The prevalence of *Candida* spp. was determined by culture, the yeasts were identified, and the sensitivity to fluconazole and itraconazole was determined by the ATB fungus method; the strains with residual growth in fluconazole by such method were submitted to antibiogram by the methods approved by the CLSI.

Results: The prevalence of *Candida* spp. was 33.3% (*C. albicans*, 77%). All the isolations showed sensitivity to fluconazole. Resistance to itraconazole was found in 9% of *C. albicans* isolates, and in 100% of *C. glabrata*; 2.5% of the isolates of *C. albicans* and 100% of *C. kefyri* resulted sensitive dose-dependent to such antimycotic.

Conclusions: *C. albicans* was the yeast most frequently isolated from vaginal discharge, followed by emergent pathogens such as *C. parasilopsis* and *C. tropicalis*. In the studied po-

pulation, yeasts from the *Candida* gender were still very sensitive to antimycotic agents. It is recommended to identify the yeast to its gender and to perform sensitivity tests in case of therapeutic failure or in recurrent infections.

Key words: candidiasis, pregnancy, antimycotic resistance, antimycotics, *Candida*

Introducción

La candidiasis vulvovaginal es una infección causada por diferentes especies del género *Candida*. La micosis se caracteriza por prurito vulvar y vaginal, con presencia de secreción blanquecina, a veces grumosa, que cubre la vulva y las paredes de la vagina, y, además, eritema y edema difusos ^(1,5).

El embarazo es un factor predisponente para desarrollar la enfermedad, debido a los altos niveles de glucógeno y a la elevada carga hormonal, razón por la cual muchas mujeres sufren varias infecciones a lo largo del embarazo, especialmente en los últimos meses. Después del parto, los niveles hormonales cambian y las infecciones suelen desaparecer, ya que el medio vaginal no favorece el crecimiento de hongos ^(2,4).

Se considera que la candidiasis vulvovaginal es un problema universal que afecta a millones de mujeres en todo el mundo. La mayoría presenta una infección candidiásica vulvovaginal, al menos, en una ocasión a lo largo de su vida. Además, la mitad de ellas presenta, al menos, dos o tres episodios infecciosos en un año. La principal especie involucrada en la candidiasis es *Candida albicans*; sin embargo, se ha reportado un aumento en la incidencia de *Candida glabrata* ^(2,3). En Colombia, al igual que en Estados Unidos, la candidiasis vulvovaginal es la segunda causa más común de infección vaginal, la cual afecta principalmente a mujeres entre los 20 y los 40 años ⁽³⁾.

Debido al aumento observado en el número de casos por esta infección, además del incremento de algunas especies resistentes a los antifúngicos, lo que se buscó con esta investigación fue determinar la prevalencia de candidiasis vulvovaginal en un grupo de mujeres gestantes de Medellín. Se tuvieron en cuenta algunos factores de riesgo, como la edad y el trimestre de embarazo. Se evaluó la manifestación de síntomas en las pacientes incluidas en el estudio. Además, se determinó la actividad *in vitro* de antifúngicos como el fluconazol y el itraconazol frente a diferentes especies de *Candida* aisladas de pacientes embarazadas con candidiasis vulvovaginal.

Materiales y métodos

Se realizó un estudio descriptivo de corte. La población estudiada fueron las gestantes de Medellín que acudieron a control prenatal en diferentes instituciones prestadoras de servicios de salud de la ciudad, durante el periodo comprendido entre febrero de 2006 y junio de 2007. A partir de allí se determinó una muestra calculada con un error del 5% y una confianza del 95%, para un total de 300 mujeres gestantes, las cuales fueron seleccionadas de forma aleatoria.

A cada gestante se le informó del estudio y se le invitó a formar parte de él. Se consignaron sus datos en un formulario de encuesta con variables como edad, trimestre de embarazo y presencia de síntomas. Previo consentimiento informado, se procedió a obtener una muestra del flujo vaginal con dos hisopos estériles.

Uno de los hisopos se utilizó para realizar el examen directo (KOH-Gram) y el otro se remitió al laboratorio de investigación de la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia en medio de transporte Stuart (Merck, S. A., Colombia) para su posterior análisis.

Para el cultivo se utilizaron los medios *Sabouraud Dextrosa Agar* (Merck, S. A., Colombia) y *Chromogenic Candida Agar* (Oxoid, Hampshire, England), para la identificación presuntiva de especies de levaduras según el color de las colonias. Los cultivos se incubaron entre 35°C y 37°C, durante 72 horas. Su observación microscópica se realizó utilizando la solución de azul de lactofenol.

Todos los aislamientos de *Candida* spp. se conservaron en 1 ml de caldo BHI-glicerol al 10% a -20 °C.

Identificación de levaduras. Al obtener el crecimiento de colonias posiblemente de *Candida* spp., se procedió a practicar la prueba de tubo germinal, haciendo una suspensión de la colonia en 0,5 ml de suero humano fresco, que se incubó a 35°C durante 2 horas ⁽⁵⁾.

Las levaduras se identificaron como *C. albicans* cuando fueron positivas para la prueba de tubo germinal y había presencia de pigmento verde en el agar cromogénico. Aquellos aislamientos en los cuales la metodología mencionada no pudo determinar la especie, se identificaron por el método API 20 C AUX®, siguiendo las especificaciones del fabricante (BioMérieux, Paris, France).

Tabla 1. Concentraciones críticas (mg/L) recomendadas por el *National Committee for Clinical Laboratory Standards* para *Candida* spp.

Antifúngico	Sensible	Sensible según la dosis	Resistente
Fluconazol	≤8	16 - 32	≥64
Itraconazol	≤0,125	0,25 - 0,5	≥1

Sensibilidad a los antifúngicos. El método utilizado fue el *ATB Fungus*TM (BioMérieux, Paris, France), que permite determinar la sensibilidad de *Candida* spp. frente a antifúngicos en medio semisólido, en condiciones muy próximas a las de la técnica de referencia de microdilución, según las recomendaciones del *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST)⁽⁹⁾ y del *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI)⁽¹⁰⁾. La galería contiene 4 antifúngicos (fluocitosina, anfotericina B, fluconazol e itraconazol) a diferentes concentraciones, de los cuales, se tendrán en cuenta, por utilidad en el tratamiento de la candidiasis vulvovaginal, únicamente el fluconazol con rangos de 0,25 a 128 mg/L, e itraconazol, con rangos de 0,125 a 4 mg/L.

La galería se procesó siguiendo las recomendaciones del fabricante. Se incubó a 35° a 37°C durante 24 a 48 horas. Su lectura se hizo culminado el periodo de incubación, mediante la visualización de turbidez en las cúpulas.

Los aislamientos se clasificaron como sensibles, sensibles según la dosis o resistentes al antifúngico estudiado, según los puntos de corte establecidos por el *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) M27-A2 para el fluconazol y para el itraconazol⁽¹⁰⁾.

La interpretación de la concentración inhibitoria mínima (CIM) puede observarse en la tabla 1.

A las cepas en que se presentó dificultad para la interpretación de la sensibilidad por el método *ATB Fungus*[®] (crecimiento residual en fluconazol), se les realizó antibiograma por los métodos avalados por el CLSI: microdilución M27-A y método de difusión en disco M-44P, siguiendo las recomendaciones de dicho instituto.

El procesamiento de la información se realizó en el programa Excel, en el que se compararon las variables mencionadas.

Resultados

La edad promedio de las pacientes incluidas en el estudio fue de 24 años (rango, 14 a 46 años). Las pacientes pertenecían a los estratos 1, 2 y 3 de Medellín, pertenecían al régimen subsidiado o al contributivo y a los programas de control prenatal.

En 100 (33,3%) de 300 muestras analizadas se aislaron levaduras sugestivas de *Candida* spp. La frecuencia más alta la presentó *C. albicans* (77%) y las menos frecuentes con un cultivo positivo fueron *C. kefyr* y *C. famata* (figura 1).

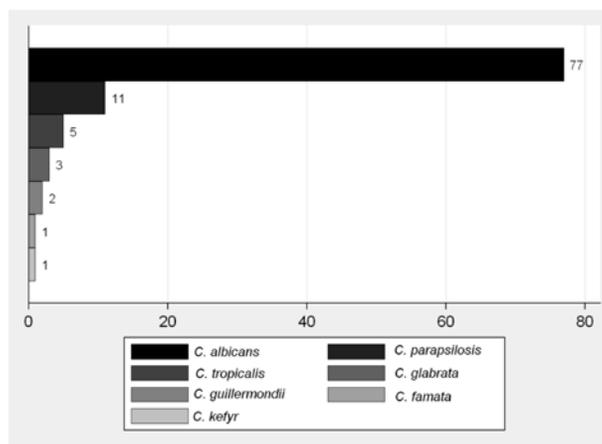


Figura 1. Distribución porcentual de las especies aisladas de *Candida*

Tabla 2. Sintomatología asociada a los hallazgos del cultivo

Pacientes/cultivo	Sintomáticas	Asintomáticas	Total
Cultivo positivo	58 (42,6%)	42 (25,6%)	100
Cultivo negativo	78 (57,4%)	122 (74,3%)	200
Total	136 (100%)	164 (100%)	300

De las 100 mujeres gestantes con cultivo positivo, 42% cursaba el primer trimestre de embarazo; 44%, el segundo trimestre, y 13%, el tercer trimestre. Una paciente (1%) tuvo aborto espontáneo debido a causas desconocidas, y presentó cultivo positivo para *C. albicans*. De las 136 pacientes sintomáticas, 58 (42,6%) tuvieron cultivo positivo para *Candida* spp., y entre las 164 asintomáticas, 42 (25,6%) presentaron cultivo positivo para *Candida* spp. (tabla 2).

Al analizar la correlación entre el examen directo y el cultivo, se observaron blastoconidias y pseudohifas en 75 (75%) de 100 muestras con cultivo positivo para *Candida* spp. No se observaron hongos en el examen directo en

25 de 100 (25%) muestras con cultivo positivo para *Candida* spp.

El perfil de sensibilidad a los antifúngicos se presenta en la tabla 3. De los 100 aislamientos obtenidos, el 100% presentó sensibilidad al fluconazol. Sin embargo, por el método *ATB Fungus®*, en 6% de los aislamientos hubo dificultad para la interpretación debida al crecimiento residual en fluconazol. Para el itraconazol se observó sensibilidad de 88%; se halló resistencia al itraconazol en 9% de los aislamientos de *C. albicans* y en 100% de los aislamientos de *C. glabrata*. El 2,5% de los aislamientos de *C. albicans* y el 100% de aislamientos de *C. kefyr* resultaron sensibles según la dosis a dicho antifúngico.

Tabla 3. Perfil de sensibilidad de las especies de *Candida* frente a los diferentes antifúngicos ensayados

Especie	N	Sensibilidad al fluconazol (%)	Sensibilidad al itraconazol (%)	Sensibilidad según la dosis al itraconazol (%)	Resistencia al itraconazol (%)
<i>C. albicans</i>	77	100	88,4	2,6	9
<i>C. parapsilosis</i>	11	100	100	0	0
<i>C. tropicalis</i>	5	100	100	0	0
<i>C. glabrata</i>	3	100	0	100	0
<i>C. guilliermondii</i>	2	100	100	0	0
<i>C. kefyr</i>	1	100	100	0	0
<i>C. famata</i>	11	100	100	0	0
N	100	100	88	5	7

Discusión

En la población de mujeres embarazadas estudiada, la prevalencia de candidiasis vulvovaginal fue de 33,3 % y es comparable a lo comunicado por otros autores ⁽³⁻⁶⁾.

En los últimos años se llevaron a cabo varios estudios que demuestran que *C. albicans* todavía es la especie más frecuentemente responsable de la candidiasis vulvovaginal (74% a 94%), mientras que otras especies, *C. glabrata* y *C. krusei*, son menos frecuentes y sus hallazgos se relacionan con mayor resistencia a los antifúngicos ^(3-5,8). En este estudio, *C. albicans* también fue la especie más frecuentemente aislada, seguida por patógenos emergentes, como *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*. Otros autores encontraron entre 6,2% y 16,3% de *C. glabrata* ⁽³⁻⁵⁾, habitualmente relacionada con vaginitis crónica ⁽⁶⁻⁸⁾.

De las muestras con cultivo positivo, el examen directo fue positivo para *Candida* spp. en 75% y, negativo, en 25%. Por la correlación entre el examen directo y el cultivo, y entre la manifestación de síntomas y la positividad del cultivo, se demuestra la importancia del examen directo y el cultivo para establecer el diagnóstico de candidiasis vulvovaginal en muchos de los casos. Hay que tener presente la importancia de determinar el estado de portadora asintomática: 42 (25,6%) pacientes fueron asintomáticas y presentaron cultivo positivo para *Candida* spp.

En la candidiasis vulvovaginal puede aislarse más de una especie de levadura con distinto comportamiento frente a los antifúngicos y el tratamiento puede favorecer el desarrollo de especies resistentes ⁽⁶⁾. La implementación del agar cromogénico para el cultivo del flujo vaginal en el que se observen blastoconidias o pseudohifas en el examen directo, es de gran utilidad para la detección de infecciones mix-

tas, por más de una especie de *Candida* ⁽⁶⁾. En nuestro estudio no se encontraron infecciones mixtas por diferentes especies de *Candida*.

Se puede concluir que, en la población estudiada de mujeres embarazadas, las levaduras del género *Candida* son sensibles a los antifúngicos; en nuestro estudio encontramos una sensibilidad de 100% al fluconazol. Generalmente, *C. albicans* presenta sensibilidad al fluconazol, lo cual concuerda con los resultados obtenidos en este estudio, mientras que *C. glabrata* puede adquirir resistencia a los azoles con previa exposición a dichos fármacos o sin ella. Aunque el 100% de los aislamientos de *C. glabrata* fueron sensibles *in vitro* al fluconazol, deben considerarse como sensibles según la dosis por lo anteriormente expuesto. Es conocida la resistencia natural de *C. krusei* al fluconazol, pero en este estudio no se aisló esta especie.

En cuanto al perfil de sensibilidad al itraconazol, se encontró una sensibilidad de 87%. En 7 (9%) de 77 aislamientos de *C. albicans*, se encontró resistencia a dicho antifúngico; 3 (100%) de 3 de los aislamientos de *C. glabrata* fueron sensibles según la dosis al itraconazol, al igual que 2 (2,6%) de 77 de *C. albicans*.

Todos los aislamientos fueron sensibles a la anfotericina B, hallazgo que coincide con otros estudios realizados ⁽⁶⁻⁸⁾. No obstante, se debe tener en cuenta que este hallazgo no ofrece alternativas terapéuticas, ya que este antifúngico no se emplea para el tratamiento de la candidiasis vulvovaginal. Entre los medicamentos disponibles no se incluye al clotrimazol, que es recomendado para el tratamiento para candidiasis vulvovaginal por las guías 412 en Colombia.

Se recomienda la identificación a nivel de especie y, si es posible, hacer pruebas de sensibilidad a los antifúngicos en caso de falla terapéutica y candidiasis recidivante o crónica.

Agradecimientos

Los autores expresamos sinceros agradecimientos a las unidades hospitalarias y centros de salud de la ESE Metrosalud, por permitirnos tomar las muestras e incluir a las pacientes en el estudio; a los estudiantes de los cursos de micología de los años 2006 y 2007 de la Institución Universitaria Colegio Mayor de Antioquia, por su participación en el proyecto; a Catalina de Bedout y a Luisa Fernanda López de la Corporación para Investigaciones Biológicas por la confirmación de los resultados de sensibilidad por el método de referencia.

Referencias

1. Arango M, Castañeda E. Micosis humanas. 2ª edición. Medellín: CIB; 2003.
2. Díaz FJ, Estrada S, Franco L, Jaramillo JM, Mestre AE, Ospina S, et al. Microbiología de las infecciones humanas. Primera Edición. Medellín: CIB; 2007. p. 657-65.
3. Sobel J, Chaim W. Update on treatment of vulvovaginal candidiasis. Rev Iberoam Micol. 1996;13:44-6.
4. Rivero M. Frecuencia de especies de *Candida* aisladas en pacientes embarazadas con vulvovaginitis. Rev Soc Ven Microbiol Caracas. 2003;23.
5. Buscemi L, Nigrón R. Estudio de vulvovaginitis agudas en pacientes adultas, sexualmente activas con especial referencia a la candidiasis en pacientes del hospital de infecciosas Francisco J. Muñiz. Rev Iberoam Micol. 2004;21:177-81.
6. García M, García S, Copolillo EF, Cora Eliseth, M, Barata AD, Vay CA, et al. Prevalencia de candidiasis vaginal en embarazadas. Identificación de levaduras y susceptibilidad a los antifúngicos. Rev Argentina Microbiol. 2006;38:9-12.
7. Bauters GM, Dhont MA, Temmerman MI, Nelis HJ. Prevalence of vulvovaginal candidiasis and susceptibility to fluconazole in women. Am J Obstet Gynecol. 2002;187:569-74.
8. Richter S, Rudolph P, Galask RP, Messer S, Hollis R, Diekema D, Pfaller M. Antifungal susceptibilities of *Candida* species causing vulvovaginitis and epidemiology of recurrent cases. J Clin Microbiol. 2005;43:2155-62.
9. Cuenca-Estrella M, Moore CB, Barchiesi F, Bille J, et al. Multi-center evaluation of the reproducibility of the proposed antifungal susceptibility testing method for fermentative yeasts. Subcommittee of the European committee on antimicrobial susceptibility testing (AFST- EUCAST). Clin Microbiol Infect. 2003;9:467.
10. NCCLS. Reference method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline. NCCLS document M44-A. Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2004.
11. Hernández M, Pla J, Nombela C. Aspectos moleculares y genéticos de la resistencia a azoles en *Candida* spp. Rev Iberoam Micol. 1999;14:150-4.
12. Espinel A, Pfaller M, Messer SA, Killian CC, Norris HA, Ghanoun MA. Multicenter comparison of the sensititre yeast one colorimetric antifungal panel with the National Committee for Clinical Laboratory M27-A reference method for testing clinical isolates of common and emerging *Candida* spp., *Cryptococcus* spp., and other yeasts and yeasts-like organisms. J Microbiol. 1999;37:591-5.
13. Alexandre BD, Byrne TC, Smith KI, Hanson KE, Kevin J, Hanson KE, Anstrom KJ, Perfect JR, Reller LB. Comparative evaluation of test and sensititre yeastone panels against the Clinical and Laboratory Standards Institute M27-A2 reference broth microdilution method for testing *Candida* susceptibility to seven antifungal agents. J Clin Microbiol. 2007;45:698-706.
14. BioMérieux, S. A., ATB™ fungus Reference 14 204. Paris, France: BioMérieux S.A.
15. Brunella P, Romano L, Sanguinetti M, Masucci L, Morace G, Fadda G. Commercial system for fluconazole susceptibility testing of yeasts; comparison with the broth microdilution method. Diagn Microbiol Infect Dis. 2000;38:29-36.
16. Sewell D, Michael A, Pfaller A. Comparison of broth macrodilution, broth microdilution, and e test antifungal susceptibility test for fluconazole. J Microbiol. 1994;32:2009-12.
17. Hospenthal DR, Beckius ML, Floyd KL, Horvath LL, Murray CK. Presumptive identification of *Candida* species other than *C. albicans*, *C. krusei*, and *C. tropicalis* with the chromogenic medium CHROMagar *Candida*. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2006;5:1.
18. Torres J, Alvarado E. *In vitro* susceptibilities to yeasts using the ATB fungus method, compared with sensititre yeast one and standard CLSI (NCCLS) M27-A2 methods. J Antimicrob Chemother. 2007;60:658-61.
19. NCCLS. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; approved standard. NCCLS document M27-A2. Wayne PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2002.
20. Fidel JRPL, Vázquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. Clin Microbiol Rev. 1999;12:80-96.