

Prevalencia de serotipos de *Candida albicans* en aislamientos de hemocultivo en Chile y primer caso de candidemia por *Candida dubliniensis*

Víctor Silva, Macarena Cabrera, M^a Cristina Díaz, Claudia Abarca y Germán Hermosilla

Programa de Microbiología y Micología, Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile

Resumen

Nuestro objetivo fue determinar la prevalencia de los serotipos de *Candida albicans* en aislamientos de hemocultivo y valorar la presencia de *Candida dubliniensis* entre los mismos. Estudiamos 47 cepas identificadas previamente como *C. albicans* por métodos convencionales, 28 aisladas de pacientes pediátricos y 19 de adultos. Las cepas fueron re-identificadas por métodos fenotípicos, como asimilación de xilosa y crecimiento a 42 °C. El método API ID 32C (bioMérieux) fue empleado con las cepas de identidad compatible con *C. dubliniensis*, y su confirmación fue realizada por tipificación molecular usando amplificación aleatoria del DNA polimórfico (RAPD). El serotipo de *C. albicans* fue determinado por aglutinación con antisuero anti-antígeno 6 de la pared celular (Candida Check, Iatron Inc., Japón) y la sensibilidad *in vitro* fue evaluada por un método de microdilución en caldo.

De las 47 cepas, confirmamos 46 como *C. albicans*, de las cuales 31 (67%) correspondieron al serotipo A. Los pacientes adultos presentaron una elevada prevalencia del serotipo A (95%,) y el serotipo B presentó una frecuencia del 52% en los niños ($p < 0,05$). Confirmamos la identidad de *C. dubliniensis* en una cepa aislada de hemocultivo de un paciente pediátrico. El 100% de las cepas del serotipo B fueron sensibles a fluconazol, itraconazol y anfotericina B mientras que en el serotipo A, el 3% de las cepas fueron sensibles dependiendo de la dosis a fluconazol, y el 6% a itraconazol.

En conclusión, *C. albicans* serotipo A predominó en la candidemia del adulto y la distribución de ambos serotipos fue homogénea en niños. Todas las cepas fueron altamente sensibles a los antimicóticos. Notificamos por primera vez una candidemia por *C. dubliniensis* en Sudamérica.

Palabras clave

Candidemia, Serotipos A y B, *C. dubliniensis*, Diagnóstico molecular

Prevalence of *Candida albicans* serotypes in blood isolates in Chile, and first report of *Candida dubliniensis* candidemia

Summary

Our main goal was to determine the prevalence of *C. albicans* serotypes isolates from blood cultures and identify the presence of *C. dubliniensis*. We studied 47 strains identified as *C. albicans* by conventional methods, 28 were isolated from children and 19 from adult patients. The strains were re-identified by standard methods and phenotypic screening as xylose assimilation and growth at 42 °C. API ID 32C (bioMérieux) was employed with the *C. dubliniensis* suspected strains and confirmation was made by molecular fingerprinting using random

Dirección para correspondencia:

Dr. Víctor Silva.
Programa de Microbiología y Micología
Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM)
Facultad de Medicina, Universidad de Chile
Independencia 1027, Santiago, Chile
Tel.: +56 2 678.6145
Fax: +56-2 735.5855
E-mail: vsilva@machi.med.uchile.cl

Aceptado para publicación el 5 de Junio de 2003

amplified polymorphic DNA (RAPD). The *C. albicans* serotype was determined by agglutination with antiserum anti-antigen 6 from cell wall (Candida Check, Iatron Inc., Japan) and the *in vitro* susceptibilities were evaluated by a microdilution method. From 47 strains, 46 were confirmed as *C. albicans*, 31 of them (67%) were serotype A. Adult patients presented a high prevalence of serotype A (95%) and children presented a frequency of 52% of the serotype B ($p < 0.05$). We confirmed the identification of *C. dubliniensis* in one strain isolated from an infant. All serotype B strains were susceptible to fluconazole, itraconazole and amphotericin B. On the other hand, 3% and 6% of serotype A strains were "susceptible dose dependent" to fluconazole and itraconazole, respectively. *C. albicans* serotype A was predominant in adult candidemia and its distribution was homogenous in children patients. All strains were highly susceptible to antifungals. We report here the first case of *C. dubliniensis* candidemia in South America.

Key words Candidemia, Serotypes A and B, *C. dubliniensis*, Molecular diagnosis

Candida albicans puede formar parte de la microbiota del hombre hasta encontrar condiciones favorables para aumentar su población, invadir y causar infección. El espectro varía desde cuadros superficiales simples a infecciones invasoras graves [1]. Entre estas últimas sobresale la candidiasis hematogena o candidemia, que afecta fundamentalmente a pacientes neutropénicos e internados en unidades de cuidados intensivos (UCI) sometidos a procedimientos invasivos, como es el uso de catéter venoso central, o nutrición parenteral, entre otros [2-5]. La candidiasis hematogena ha aumentado de forma considerable y continúa en las últimas décadas. Entre las infecciones intrahospitalarias del torrente sanguíneo, de la década de 1980 en Estados Unidos de América, se relata un aumento de hasta el 485% de las candidemias en hospitales universitarios de gran tamaño [6]. En la segunda mitad de la década de 1990, estos agentes representaron la tercera causa de sepsis intrahospitalaria en pacientes internados en UCI [7]. Recientemente, en el informe del programa de vigilancia internacional SENTRY, el 80% de las candidemias fueron de origen nosocomial y el 50% afectaron a pacientes de la UCI [8]. Actualmente, se describe que las especies de *Candida* representan entre el 8 y el 25% de las infecciones del torrente sanguíneo (ITS), estimándose la media en un 12% [9]. En Chile, estos agentes representan la cuarta causa de sepsis en pediatría (7,5%), siendo los principales responsables de ITS asociada a nutrición parenteral en niños, alcanzando al 30% de los aislamientos y el cuarto en adultos con un 10% [10]. En los estudios de vigilancia de candidemias, *Candida albicans* sigue siendo la especie que se aísla con mayor frecuencia, siendo esta cercana o levemente superior al 50% [3-9].

C. albicans presenta diferencias antigénicas en las mananoproteínas de la pared celular, identificándose los serotipos A y B. El serotipo A posee los determinantes antigénicos 1, 4, 5 y 6, en tanto el serotipo B carece del epitopo 6 [11]. Los estudios de serotipificación han sido realizados principalmente en candidiasis superficiales del adulto, ya sea vaginal u oral de pacientes infectados por el VIH, donde hay un amplio predominio del serotipo A [12-14]. En España, al estudiar candidiasis oral de pacientes VIH, Torres-Rodríguez *et al.* encuentran que a pesar del predominio del serotipo A, se observa un aumento de la frecuencia del serotipo B [15]. Para algunos, las cepas del serotipo B son menos sensibles a los antifúngicos como 5-fluorocitocina, itraconazol y fluconazol [16,17].

Recientemente, se ha descrito una nueva especie llamada *Candida dubliniensis*, que presenta características

fenotípicas similares a *C. albicans*, lo cual dificulta su identificación en el trabajo de rutina de un laboratorio clínico [18]. Se describen pruebas selectivas para *C. dubliniensis*, como la falta de asimilación de xilosa y ausencia de crecimiento a 42 °C, entre otras. Actualmente, la galería API ID 32C, junto a la versión 2.0 de su programa asociado (bioMérieux), permite identificar la especie *C. dubliniensis* [19,20]. Sin embargo, su confirmación requiere del uso de técnicas moleculares de tipificación genética [21]. Esta nueva especie se ha aislado principalmente de candidiasis orofaríngeas en pacientes infectados por el VIH, y su sensibilidad antifúngica es menor que *C. albicans* [18,22]. Hasta el momento, existen pocos reportes de su aislamiento en hemocultivos, describiéndose este hallazgo en países desarrollados [23-26].

No existen antecedentes de la distribución de serotipos de *C. albicans* en Chile y la información internacional sobre este tema en candidemias es muy limitada [27]. Por otro lado, existe la posibilidad de que algunos aislamientos identificados como *C. albicans*, correspondan a *C. dubliniensis*, debido a que el método convencional de identificación empleado en los laboratorios clínicos no permite diferenciar ambas especies. Debido a estos antecedentes, nuestro estudio pretendió determinar la prevalencia de serotipos de *C. albicans* en cepas aisladas de hemocultivos e identificar la posible presencia de *C. dubliniensis* entre estos aislamientos.

Material y Métodos

Se estudiaron 47 cepas, identificadas inicialmente como *C. albicans*, procedentes de hemocultivo de 28 pacientes pediátricos y 19 adultos, internados en tres centros asistenciales chilenos. Estas cepas fueron remitidas, durante los años 1999 y 2000, al laboratorio de Micología Médica del Programa de Microbiología y Micología del Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM), Facultad de Medicina, Universidad de Chile.

Identificación de especie. Las cepas se identificaron según un método estándar, que incluyó observación, análisis e interpretación de las características del cultivo, prueba de formación de tubo germinal en plasma fresco, microcultivo en agar harina de maíz con Tween 80 y asimilación de azúcares [28]. La identificación se realizó con cultivos de 24 h de incubación en agar glucosado de Sabouraud. Para comprobar la identificación de *C. albicans* y detectar la posible presencia de *C. dubliniensis*, se

realizaron dos pruebas fenotípicas de selección, donde *C. dubliniensis*, a diferencia de *C. albicans*, no crece a 42 °C, ni utiliza la xilosa como fuente de carbono [20,22]. Para ello, se preparó un inóculo, de cada cepa, de 1 a 5 x 10⁶ UFC en 1 ml de agua destilada estéril con ayuda de espectrofotómetro a 540 nm. Luego se sembraron por triplicado 10 µl de cada inóculo en placas de agar glucosado de Sabouraud y de este mismo medio enriquecido con xilosa al 1%. Todas las placas se incubaron durante 48 horas, las primeras a 42 °C, y a 37 °C las suplementadas con xilosa. Las cepas que no crecieron a 42 °C y/o no asimilaron xilosa (patrón compatible con *C. dubliniensis*), fueron estudiadas determinando su patrón bioquímico con la galería API ID 32C. Los códigos obtenidos fueron analizados con el programa informático asociado al método (bioMérieux).

Tipificación molecular. Para confirmar la presencia de *C. dubliniensis*, se realizó tipificación genética utilizando la técnica RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA). Se usaron individualmente tres iniciadores arbitrarios, con actividad específica para algunas especies del género *Candida*, utilidad detectada previamente en los Laboratorios del Programa Microbiología y Micología, siendo sus secuencias; OPBA1: 5'-TTCCCCACCC-3', OPBA15: 5'-GAAGACCTGG-3' y OPBA16: 5'-CCACGCATCA-3'. La extracción de ADN genómico de las cepas, se realizó por método físico-químico usando el kit Wizard Genomic DNA Purification (Promega, EE.UU.), a partir de 1 ml de cultivo crecido en caldo YPD (extracto de levadura, peptona y glucosa), incubado en agitación constante de 100 rpm, a 37 °C durante 24 h. La cantidad y calidad del ADN fue evaluada por electroforesis horizontal y las muestras se ajustaron con tampón Tris-EDTA a 10⁷ pg de ADN por µl. La reacción de amplificación se llevó a cabo con 50 pg de ADN de cada cepa, tampón Taq pol 1x, 100 µM de cada nucleótido, 10 pmoles del iniciador y 1 unidad de Taq ADN polimerasa (Gibco BRL, EE.UU.) en un volumen total de 25 µl. La amplificación se llevó a cabo en termociclador de BioRad (EE.UU.) con las condiciones siguientes: un ciclo de 3 min a 95 °C, 40 ciclos de 1 minuto a 94 °C, 2 min a 35 °C y 2 minutos a 72 °C, terminando con un ciclo de 5 min a 72 °C. Posteriormente, se agregaron 5 µl de tampón de carga 6x (azul de bromofenol, 0,09%; xileno, 0,09%; glicerol, 60%; EDTA, 60mM) a cada tubo eppendorf con los productos amplificados, que fueron separados por electroforesis horizontal en geles de agarosa al 1%, usando una escalera de 100 pb (Gibco BRL) como estándar de peso molecular del ADN. El gel se trató con bromuro de etidio, y los productos de amplificación se visualizaron con un transiluminador UV (Vieber Laumart, Francia) y registraron fotográficamente en película Polaroid 667. Como control se emplearon las cepas de *C. albicans* ATCC 90028 y *C. dubliniensis* CBS 7987.

Serotipificación de *C. albicans*. Para determinar el serotipo de las cepas ya confirmadas como *C. albicans*, se realizó una aglutinación empleando un antisuero con anticuerpos de clase IgG, dirigidos contra el antígeno 6 de la pared celular del serotipo A (*Candida* Check, IATRON Inc, Japón). Aproximadamente, un cuarto de colonia crecida durante 24 h en agar Sabouraud-glucosa, se mezcló con 50 µl del antisuero en una lámina con fondo negro y se agitó durante 2 minutos a 100 rpm. Las cepas que presentaron aglutinación se clasificaron como serotipo A y las negativas, como serotipo B.

Sensibilidad antifúngica. La sensibilidad a itraconazol (Janssen, Bélgica), fluconazol (Pfizer, Reino Unido) y anfotericina B (Bristol-Myers Squibb, EE.UU.), se determinó *in vitro* por la técnica de microdilución en

caldo, estandarizada por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) y sus modificaciones aprobadas [29-31]. En resumen, los antimicóticos fueron diluidos en dimetilsulfóxido (DMSO), obteniendo concentraciones de 7,68 mg/ml para fluconazol y de 0,96 mg/ml para los otros antifúngicos, conservándose a -20 °C. A partir de esta solución, se realizaron dos series de diluciones con agua destilada y DMSO para finalmente cargar las microplacas con 50 µl de las distintas concentraciones de cada fármaco. Las concentraciones finales de los antifúngicos (tras agregar 100 µl de inóculo) estaban en el intervalo 0,25-128 µg/ml para el fluconazol, y 0,03-16 µg/ml para itraconazol y anfotericina B. Como medio de cultivo se utilizó RPMI 1640 con L-glutamina, tampinado con MOPS a pH 7 y enriquecido con glucosa al 2%. Luego se esterilizó por filtración y se almacenó a 4 °C por un período máximo de dos semanas hasta su uso [31]. El inóculo se preparó a partir de una suspensión en suero fisiológico estéril de levaduras de 24 h de crecimiento en agar glucosado de Sabouraud, ajustada a una concentración de 1 a 5 x 10⁶ UFC/ml con ayuda de un espectrofotómetro a 540 nm. El inóculo se diluyó 1:50 en agua destilada estéril y posteriormente 1:20 en medio RPMI 1640 con 2% de glucosa para llegar a una concentración final en la placa de 0,5 a 2,5 x 10⁵ UFC/ml. Las placas se incubaron a 37 °C y las lecturas se realizaron a las 24 y 48 h con ayuda de un lector de ELISA a 540 nm [30]. La menor concentración de anfotericina B capaz de inhibir

90% de crecimiento del microorganismo fue considerada la concentración mínima inhibitoria (CMI) para este fármaco y para los azoles el criterio fue de 50% [31]. Los valores de CMI fueron interpretados como sensible, sensible dependiendo de la dosis y resistente según los criterios establecidos por el NCCLS [29,32]. Como control se utilizaron las cepas *Candida krusei* ATCC 6258 y *Candida parapsilosis* ATCC 22019, además de los controles de crecimiento, que comprendió el solvente más el inóculo en el caldo RPMI 1640 con glucosa 2% y el blanco para cada cepa [33].

Análisis estadístico. El análisis de la distribución de serotipos por grupo de pacientes y su asociación con la sensibilidad, se realizó por el método de ² para tablas 2 x 2 con 95% de seguridad de hipótesis nula.

Resultados

En el periodo 1999 a 2000 se recibieron 47 cepas identificadas como *C. albicans*, aisladas de hemocultivos de 28 niños y 19 adultos, internados en tres hospitales chilenos. Al someter los aislamientos a las pruebas selectivas, cinco de ellos no crecieron a 42 °C y/o no asimilaron xilosa al 1%, caracteres típicos de la especie *C. dubliniensis*. Se determinó su patrón bioquímico con la galería API ID 32C, identificándose un único aislamiento como *C. dubliniensis*, (código ID 7142100015) con un 99,9% de probabilidad según el programa informático. Esta cepa fue la única con resultado positivo para las pruebas selectivas de *C. dubliniensis*. La confirmación se basó en la tipificación genética por RAPD, y con los tres iniciadores se obtuvieron los patrones específicos de especie, fácilmente distinguibles entre las cepas de *C. albicans* y *C. dubliniensis* (Figura). Con el uso de las pruebas de selección, API ID 32C y RAPD confirmamos la identidad de *C. albicans* en 46 cepas y de *C. dubliniensis* en un solo aislamiento de hemocultivo procedente de un niño hospitalizado en Santiago.

De las 46 cepas confirmadas como *C. albicans*, 27 eran de niños y 19 de adultos, determinando una frecuen-

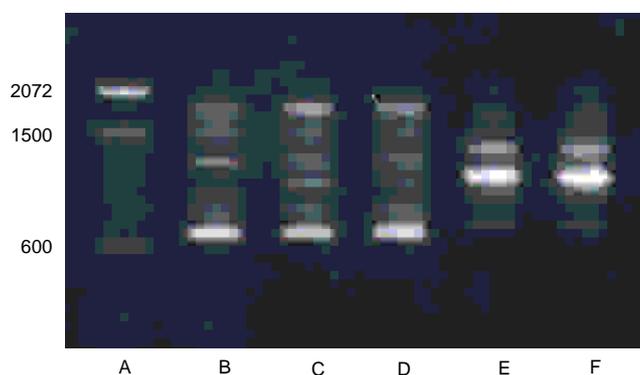


Figura. Electroforesis de ADN de cepas de *C. albicans* y *C. dubliniensis*. Perfiles genéticos de las cepas, amplificadas con el iniciador OPBA16 por RAPD. A: Escalera de 100 pb; B: *C. albicans* ATCC 90028; C y D: cepas de *C. albicans* aisladas de hemocultivo en Chile; E: *C. dubliniensis* CBS 7987 y F: cepa de *C. dubliniensis* aislada de hemocultivo en Chile.

Tabla 1. Prevalencia de los serotipos A y B de *Candida albicans* en los 46 aislamientos obtenidos de candidemias en Chile.

	Serotipo A n (%)	Serotipo B n (%)	Total n (%)
Niños	13 (48)	14 (52)	27 (100)
Adultos	18 (95)	1 (5)	19 (100)
Total	31 (67)	15 (33)	46 (100)

Valor p = 0,0009

Correlación de Yates = 0,002

cia del serotipo A del 67%. Al analizar los datos por grupo de paciente, observamos que en adultos existe una marcada prevalencia del serotipo A con un 95%, mientras que en los niños la distribución de ambos serotipos es homogénea, detectándose una frecuencia del 52% para el serotipo B, siendo esta diferencia significativa (Tabla 1).

La sensibilidad corresponde a la lectura tras 24 h de incubación, ya que a las 48 h los valores de CMI de las cepas estándares (ATCC) no estaban en el rango establecido para ellas. Las cepas de *C. albicans* fueron sensibles *in vitro* a los antifúngicos ensayados. Todas las cepas fueron sensibles a anfotericina B, y todas las del serotipo B lo fueron a los azoles. Las cepas del serotipo A fueron levemente menos sensibles a itraconazol y fluconazol, 94% y 97% de cepas sensibles, respectivamente, sin detectarse resistencia, aunque una cepa (3%) fue sensible dependiendo de la dosis a fluconazol (CMI 16 µg/ml) y dos (6%) a itraconazol (CMI 0,5 µg/ml) (Tabla 2). La CMI de anfotericina B y fluconazol para la cepa de *C. dubliniensis* fue 1 µg/ml y la de itraconazol 0,5 µg/ml.

Discusión

Durante las últimas dos décadas, se ha descrito un incremento continuo en la incidencia de candidemias, siendo éstas principalmente de origen nosocomial endógeno [2-9]. *C. albicans* es la especie más frecuente, con un porcentaje de aislamiento cercano al 50%, observándose un aumento de sepsis por otras especies del género *Candida*, cuya distribución varía dinámicamente en el tiempo y área geográfica [4,5,8]. Recientemente, a partir de una candidiasis orofaríngea, Sullivan *et al.* describieron una nueva especie, que denominaron *C. dubliniensis* [18]. Este agente es fenotípicamente muy similar a *C. albicans*, por lo cual el proceso estándar de identificación no las discrimina [18]. Se ha descrito el uso de pruebas selectivas para diferenciarlas, siendo necesaria su confirmación a través de análisis molecular [19,20]. Este nuevo agente presenta menor sensibilidad a los antimicóticos y ha sido identificado en uno de cada tres pacientes con SIDA causando candidiasis oral [18] y, en menor proporción, en pacientes diabéticos [22]. Por otro lado, su identificación en candidemias ha sido poco frecuente, describiéndose casos en Australia, Bélgica, España y EE.UU. [23-26].

De los 47 aislamientos obtenidos de candidemias identificados inicialmente como *C. albicans*, confirmamos la identidad de *C. dubliniensis* en una cepa aislada de un paciente pediátrico, siendo éste el primer caso en Chile y Sudamérica. Las pruebas de selección nos permitieron seleccionar cinco aislamientos sospechosos, de los cuales sólo uno fue positivo a las pruebas utilizadas para la identificación de *C. dubliniensis*, identificándose bioquímicamente con la galería comercial API ID 32C. La confirmación de *C. dubliniensis* fue finalmente obtenida mediante amplificación del ADN genómico, con tres iniciadores especie-específicos a través de un método de amplificación aleatoria, observando una gran diferencia

Tabla 2. Rango, CMI_{50/90} y porcentaje de aislamientos de *C. albicans* sensibles, según serotipo.

<i>C. albicans</i> (n)	Anfotericina B			Fluconazol			Itraconazol		
	Rango	CMI _{50/90}	%S	Rango	CMI _{50/90}	%S	Rango	CMI _{50/90}	%S
Serotipo A (31)	0,03-1	0,13/1	100	0,25-16*	0,25/1	97	0,03-0,5*	0,03/0,06	94
Serotipo B (15)	0,03-1	0,13/1	100	0,25-1	0,25/1	100	0,03-0,06	0,03/0,06	100
Total (46)	0,03-1	0,13/1	100	0,25-16*	0,25/1	98	0,03-0,25*	0,03/0,06	96

* Valores sensibles dependiendo de la dosis (SDD). Lectura a las 24 h de incubación

entre los patrones genéticos de ambas especies, siendo idéntico el perfil de bandas amplificadas en la cepa aislada en Chile a la de referencia. Este procedimiento fue eficiente en la discriminación e identificación de *C. dubliniensis*, coincidiendo con otros estudios [19-22]. Sin embargo, debido a su utilidad, facilidad y disposición, para los laboratorios clínicos, recomendamos el uso de API ID 32C como método de identificación de esta especie, ya que puede contribuir a resolver el problema de diagnóstico del nuevo agente, dejando en manos de laboratorios de referencia, la confirmación por análisis molecular. Este hallazgo es relevante, ya que esta nueva especie, identificada inicialmente como causante de candidiasis superficiales en pacientes VIH y diabéticos, comienza a ser identificada como causante de candidiasis invasoras, no sólo en países del hemisferio norte. Esta especie es, al parecer, cosmopolita y su identificación en Chile permite suponer que puede estar presente como patógeno con mayor frecuencia.

De las 46 cepas de *C. albicans*, el serotipo A fue el prevalente (67%), coincidiendo con otros estudios realizados en candidiasis superficiales [12-15] y en candidemias [27]. Sin embargo, al analizar los resultados según el tipo de paciente, determinamos que el 95% de los aislamientos de adultos correspondieron al serotipo A, siendo esta frecuencia muy superior a la encontrada por otros autores en candidiasis superficiales, pero coincidiendo con la frecuencia encontrada en Cuba [12]. Por otro lado, los pacientes pediátricos presentaron una distribución homogénea con leve predominio del serotipo B (52)%, siendo estos datos estadísticamente significativos entre ambos grupos. A inicios de la década de 1990, en España se comunica que a pesar del predominio global del serotipo A en infecciones superficiales, el serotipo B había experimentado un aumento considerable en su frecuencia [15]. El único trabajo previo que estudia la distribución de los serotipos de *C. albicans* en cepas de candidemia, indica un predominio del serotipo B (57,6%) en aislamientos provenientes de pacientes con un estado de inmunosupresión grave, y prevalencia del serotipo A en los pacientes que presentaban sólo factores de riesgo para candidemia [27]. Nuestros datos ratifican el dinamismo que experimentan estos organismos, ya que encontramos el serotipo B en mayor proporción que el serotipo A en la población infantil con candidemia. Sin embargo, se requieren estudios futuros para verificar si esta distribución, tan particular, es estable en el tiempo, y para tratar de explicar y asociarlo al contexto epidemiológico del paciente, del organismo y del medio.

La lectura de sensibilidad en las cepas de referencia (ATCC), a las 24 h de incubación, presentó los valores establecidos previamente por el método M27A [29,33]. A las 48 h, las CMI fueron mayores, debido probablemente al sobrecrecimiento por la presencia de glucosa en el medio y que, junto al apoyo espectrofotométrico, permite la lectura precoz de la sensibilidad [30,31]. Todas las cepas fueron sensibles a anfotericina B con CMI 1 µg/ml al igual que lo descrito por Quindós *et al.* [17]. Todas las cepas del serotipo B, fueron sensibles a los azoles. Sin

embargo, las cepas del serotipo A mostraron menor sensibilidad a estos fármacos, con un 97% de cepas sensibles a fluconazol y el 94% a itraconazol, sin detectar resistencias, lo que contrasta con los datos descritos [16, 17]. Otros autores encuentran hasta un 62,5% de cepas resistentes a fluconazol en el serotipo B y hasta un 37,5% en el serotipo A [16]. Sin embargo, estos resultados se obtuvieron de cepas aisladas fundamentalmente de candidiasis orofaríngea en pacientes con SIDA, quienes debido a su enfermedad, reciben normalmente tratamientos prolongados con azoles, ejerciéndose una presión selectiva, estimulando la presencia de cepas menos sensibles. En nuestro estudio, por el contrario, los aislamientos provenían de hemocultivos, y 14 de las 15 cepas del serotipo B eran de niños, que presentan menor probabilidad de haber recibido tratamiento previo con azoles, lo que explicaría el elevado porcentaje de cepas sensibles detectado, coincidiendo con estudios recientes en nuestro medio [3,4,31]. A pesar de la menor sensibilidad detectada en el serotipo A, podemos sugerir, basándonos en los datos publicados, que las cepas del serotipo B adquieren, con mayor facilidad, tolerancia secundaria a los azoles. Sin embargo, estos antecedentes requieren confirmación con futuros estudios.

El presente estudio, proporciona los primeros datos acerca de la prevalencia de los serotipos A y B de *C. albicans* aislados de candidemias en Chile, donde en adultos predomina el serotipo A y en los niños los dos serotipos se distribuyen homogéneamente, además de determinar la sensibilidad de estas cepas. Por otro lado, confirma el aislamiento de *C. dubliniensis* a partir de hemocultivo, siendo éste el primer caso en Sudamérica.

AGRADECIMIENTOS

A los colegas de los Laboratorios de Microbiología de los Hospitales Roberto del Río, San José y del Clínico de la Universidad de Chile por su colaboración con el envío de las cepas estudiadas. A nuestros alumnos de Tecnología Médica y Técnicos de Laboratorio por la constante ayuda y al Departamento de Investigación y Desarrollo de la Universidad de Chile, cuya financiación (SAL 11-02) permitió en parte el desarrollo de esta investigación. Este trabajo fue financiado parcialmente por el DID de la Universidad de Chile.

Bibliografía

- Bodey GP. Candidiasis. Pathogenesis, diagnosis and treatment. 2nd ed. Raven Press, New York, 1992.
- Wey SB, Mori M, Pfaller MA, Wooslen RF, Wenzel RP. Risk factors for hospital-acquired candidemia: A matched case-control study. *Arch Inter Med* 1989; 149: 2349-2353.
- Silva V, Díaz MC, Febré N, Red de Diagnóstico en Micología Médica. Vigilancia de la resistencia de levaduras a antifúngicos. *Rev Chil Infect* 2002; 19 (Supl 2): 149-156.
- Silva V, Díaz MC, Febré N, and the Chilean Invasive Fungal Infections Group. Invasive fungal infections in Chile. Multicenter study of fungal prevalence and susceptibility during one year period. *Med Micol* 2003; *in press*.
- Anaissie E. Opportunistic mycoses in the immunocompromised host: Experience at a cancer center and review. *Clin Infect Dis* 1992; 14 (Suppl 1): 43-53.
- Beck-Sagué CM, Jarvis WR, National Nosocomial Infections Surveillance System. Secular trends in the epidemiology of nosocomial fungal infections in the United States, 1980-1990. *J Infect Dis* 1993; 167: 1247-1251.
- Richards MJ, Edwards JR, Culver DH, Gaynes RP, National Nosocomial Infections Surveillance System. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. *Crit Care Med* 1999; 27: 887-892.
- Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, *et al.* Bloodstream infections due to *Candida* species: SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America, 1997-1998. *Antimicrob Agents And Chemother* 2000; 44: 747-751.
- Edmond MB, Wallace SE, Mc Clish DK, Pfaller MA, Jones RN, Wenzel RP. Nosocomial bloodstream infections in United States hospitals: a three years analysis. *Clin Infect Dis* 1999; 29: 239-244.
- Otaiza F, Brenner P. Informe de la vigilancia epidemiológica de las infecciones intrahospitalarias, Chile 1997-1998. Ministerio de Salud de Chile, 1999.
- Martínez JP, Gil L, López-Ribot J, Lajeán W. Serologic response to cell wall mannoproteins and proteins of *Candida albicans*. *Clin Microbiol Rev* 1998; 11: 121-141.
- Martínez-Batista ML, Martínez-Machin G, Fernández-Andreu C, Hernández A. Serotyping of *Candida albicans* isolated from clinical specimens. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 1990; 85: 61-64.
- Mendoza M, Russian E, Villanueva E, De Torres E, Alborno M. Serotipificación de 48 aislados de *Candida albicans*: predominio del serotipo A sobre el B en Venezuela. *Invest Clin* 1992; 33: 33-37.
- Pathak A, Revatkar S, Chande CH. Prevalence of biotypes and serotypes of *Candida albicans* among clinical isolates. *Indian J Med Res* 1999; 109: 46-50.

15. Torres-Rodríguez JM, Nicolás MC, Msdrenys N, Gallach C. Distribution of serotypes A and B of *Candida albicans* in 502 strains isolated from Pathological Specimen. *Med Clin* 1991; 97: 1-3.
16. Velegraki A. *In vitro* susceptibility to itraconazole and fluconazole of switch phenotypes of *Candida albicans* serotypes A and B isolated from immunocompromised host. *J Med Veter Mycol* 1995; 33: 83-85.
17. Quindós G, San Millán R, Burgos A, et al. Assessment of the sensitivity to antifungal agents of clinical isolates of *Candida albicans* serotype A and B by the ATB Fungus method. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1995; 13: 209-212.
18. Sullivan D, Haynes K, Bille J, et al. Widespread geographic distribution of oral *Candida dubliniensis* strains in human immunodeficiency virus-infected individuals. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 960-964.
19. Pincus DH, Coleman DC, Pruitt WR, et al. Rapid identification of *Candida dubliniensis* with commercial yeast identification systems. *J Clin Microbiol* 1999; 37: 3533-3539.
20. Tintelnot K, Haase G, Seibold M, et al. Evaluation of phenotypic markers for selection and identification of *Candida dubliniensis*. *J Clin Microbiol* 2000; 38: 1599-1608.
21. Alonso-Vargas R, Garázar J, Pontón J, Quindós G. Utility of random amplified polymorphic DNA in the discrimination between *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *Rev Iberoam Micol* 2000; 17: 10-13.
22. Sullivan DJ, Moran G, Donnelly S, et al. *Candida dubliniensis*: An update. *Rev Iberoam Micol* 1999; 16: 72-76.
23. Meis JF, Runhke M, De Pauw BE, Odds FC, Siegert W, Werweij PE. *Candida dubliniensis* candidemia in patients with chemotherapy induced neutropenia and bone marrow transplantation. *Emerg Infect Dis* 1999; 5: 150-153.
24. Salesa R, Moragues MD, Sota R, Pemán J, Quindós G, Pontón J. Specific antibody response in a patient with *Candida dubliniensis* fungemia. *Rev Iberoam Micol* 2000; 18: 483-485.
25. Gottlieb G, Limaye A, Chen Y, Van Voorhis. *Candida dubliniensis* fungemia in a solid organ transplant patient: case report and review of the literature. *Med Mycol* 2001; 39: 483-485.
26. Marriot D, Laxton M, Harkness. *Candida dubliniensis* candidemia in Australia. *Emerg Infect Dis* 2001; 7: 479-480.
27. Brawner DL, Anderson GL, Yuen KY. Serotype prevalence of *Candida albicans* from blood culture isolates. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 149-153.
28. Hoog GS, Guarro J, Gené J, Figueras MJ. *Atlas of clinical fungi*. 2nd ed. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Netherlands – Universitat Rovira i Virgili, Spain, 2000.
29. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: Approved Standard M27-A. Wayne (PA) National Committee for Clinical Laboratory Standards, 1997.
30. Cuenca-Estrella M, Díaz-Guerra TM, Mellado E, Rodríguez-Tudela JL. Influence of glucose supplementation and inoculum size of growth kinetics and antifungal susceptibility testing of *Candida* spp. *J Clin Microbiol* 2001; 39: 525-532.
31. Alvarado D, Díaz MC, Silva V. Identificación y susceptibilidad antifúngica de *Candida* spp. aisladas de micosis invasora. Influencia del porcentaje de inhibición del crecimiento para la determinación de CIM. *Rev Med Chile* 2002; 130: 416-423.
32. Rex JH, Pfaller MA, Galgiani JN, et al. Development of interpretative breakpoints for antifungal susceptibility tests: Conceptual framework and analysis of *in vitro-in vivo* correlation data for fluconazole, itraconazole and *Candida* infections. Subcommittee on antifungal susceptibility testing of the National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Clin Infect Dis* 1997; 24: 235-247.
33. Rex JH, Pfaller MA, Lancaster M, Odds FC, Bolmstrom A, Rinaldi MG. Quality control guidelines for National Committee for clinical laboratory standards-recommended broth macrodilution testing of ketoconazole and itraconazole. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 816-817.