

# **Antifúngicos: generalidades y resistencia**

Microbiología general

Dr. Maximiliano Sortino



# DEFINICIÓN

## Agente antifúngico o antimicótico:

cualquier sustancia capaz de producir una **alteración tal de las estructuras de una célula fúngica** que consiga inhibir su desarrollo, alterando su viabilidad o capacidad de supervivencia, lo que **facilita el funcionamiento de los sistemas de defensa del hospedero**.

# CLASIFICACIÓN

## **Según estructura**

Polienos  
Azoles  
Alilaminas, etc

## **Según origen**

Producidos por organismos vivos  
Derivados de síntesis química

## **Según espectro de acción**

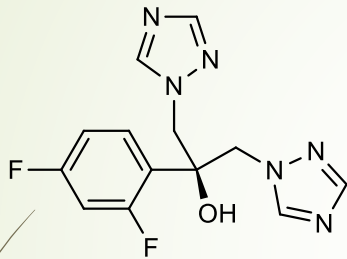
Amplio espectro  
Espectro restringido

## **Según sitio de acción**

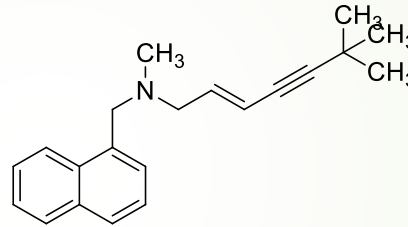
Membrana celular  
Pared fúngica  
ARN, etc

# Clasificación según su estructura

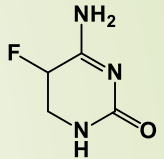
**Azoles**



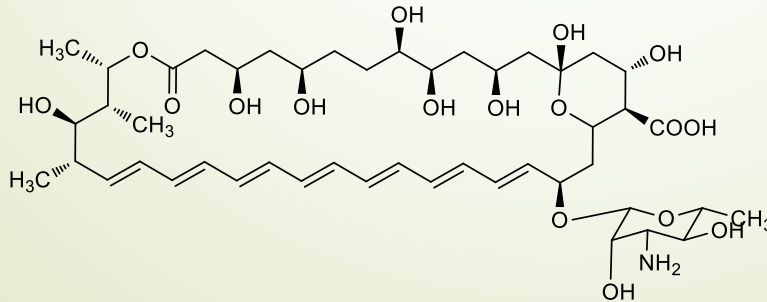
**Alilaminas**



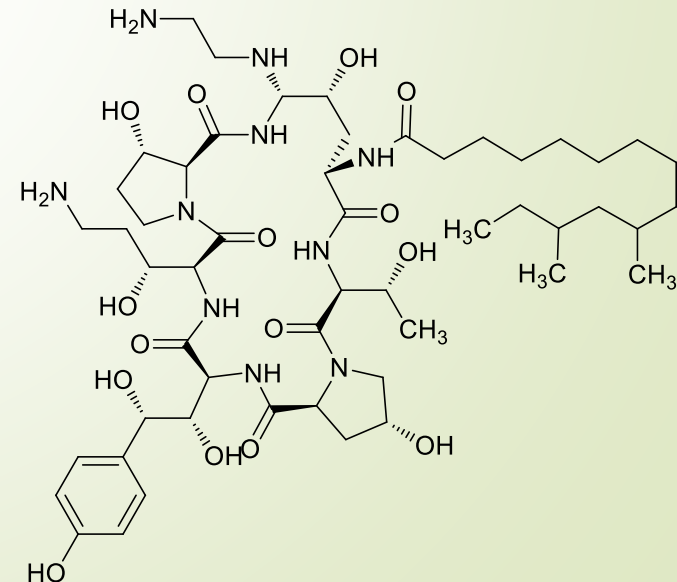
**Pirimidinas fluoradas**



**Polienos**

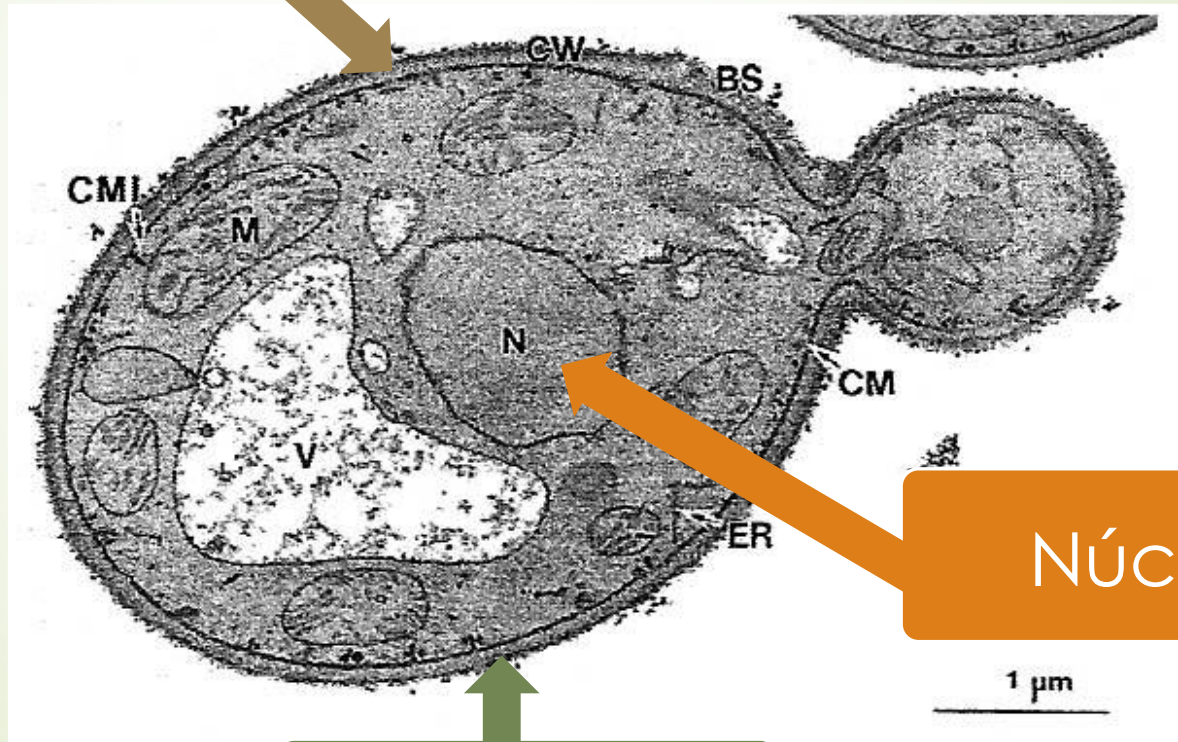


**Lipopéptidos**



# Clasificación según su sitio de acción

Membrana

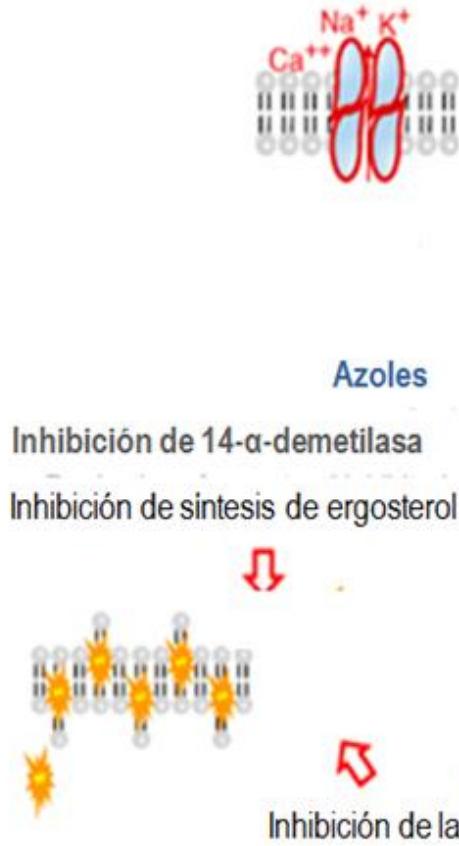


Núcleo

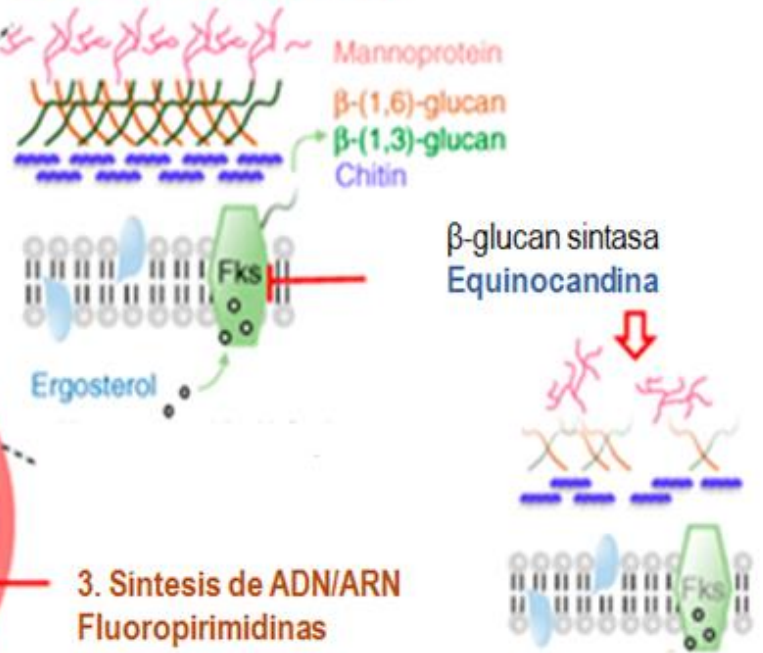
Pared

# Clasificación según su sitio de acción

## 1. Inhibición del ergosterol



## 2. Síntesis de pared celular



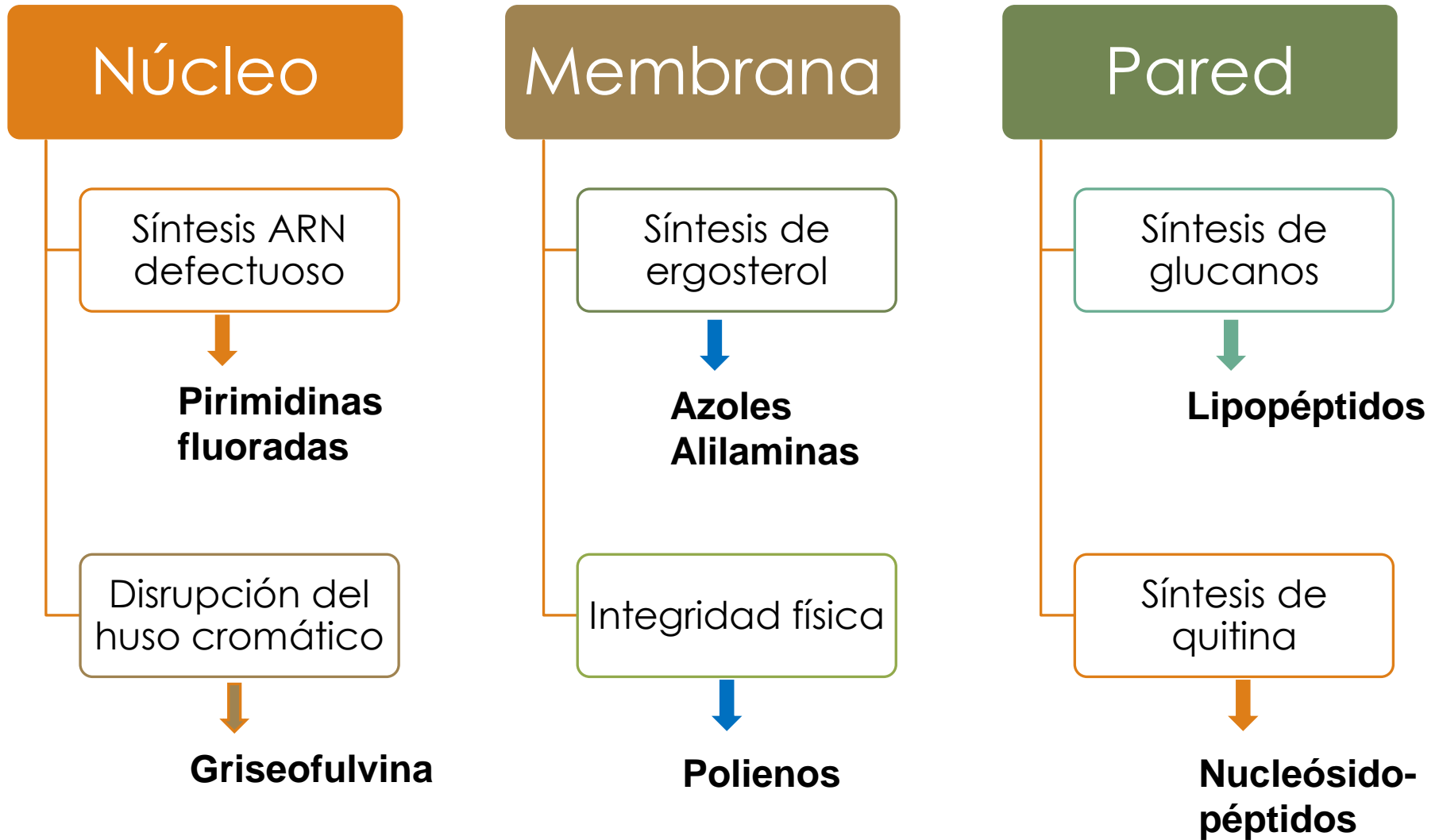
## 3. Síntesis de ADN/ARN



## 4. Inhibición de la mitosis



# Clasificación según su sitio de acción



# Clasificación según su sitio de acción

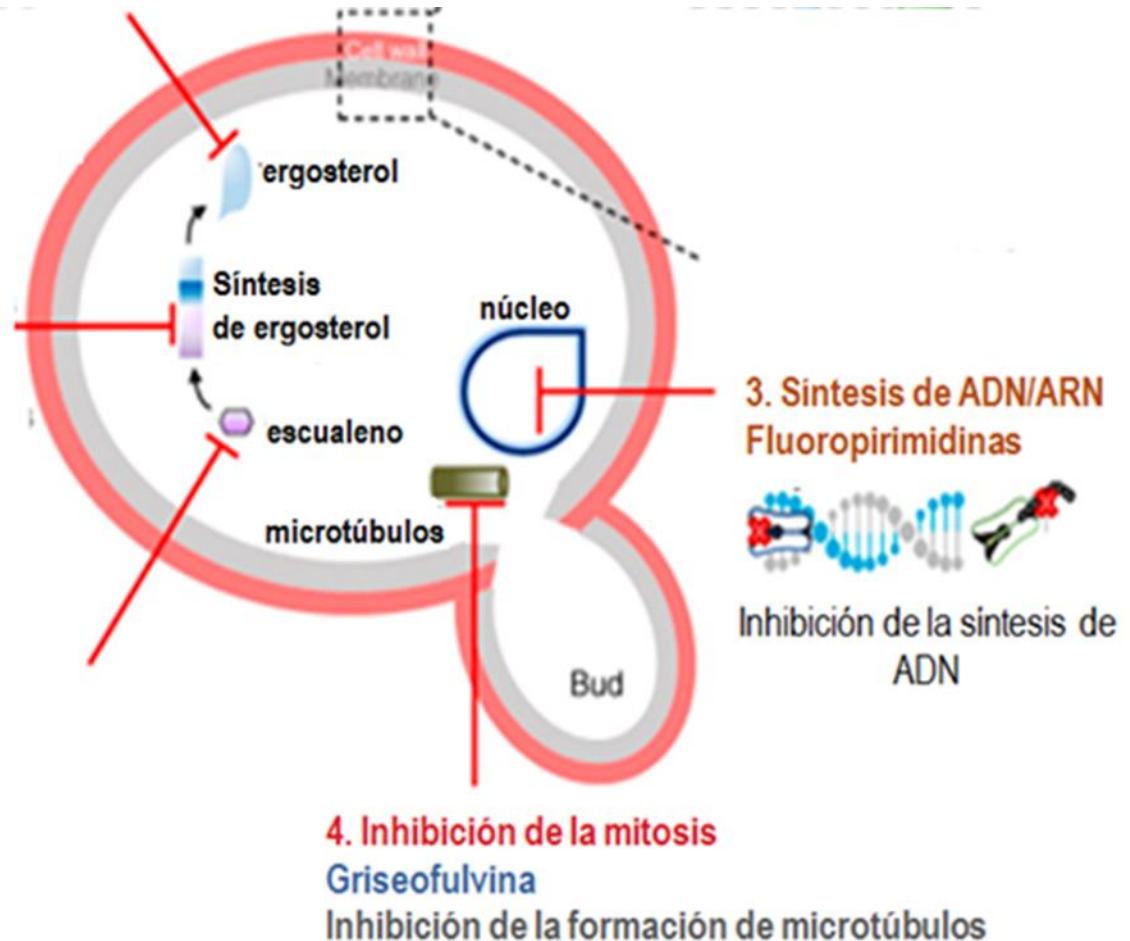
## Núcleo

Síntesis ARN defectuoso

**Pyrimidinas fluoradas**

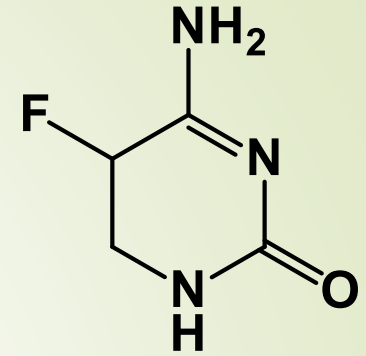
Disrupción del huso cromático

**Griseofulvina**



# 5-fluorocitosina

- Estructura: Pirimidina fluorada
- Origen: sintético



5-fluorocitosina

LOT  
EXP.  
Part No. 07-3059-EX-00

NDC 68682-355-10 **Rx Only**

## Flucytosine Capsules

250 mg

Each capsule contains 250 mg flucytosine

100 Capsules

**OCEANSIDE**  
PHARMACEUTICALS

**Usual Dosage:** For dosage recommendations and other important prescribing information, read accompanying insert.

Dist. by: Oceanside Pharmaceuticals  
a division of Valeant Pharmaceuticals North America LLC  
Bridgewater, NJ 088077

Rev. 11-11

N  
01873-55510  
0

NDC 0187-3555-10 **Rx Only**

## Ancobon®

(flucytosine)

500 mg

Each capsule contains 500 mg flucytosine

100 Capsules

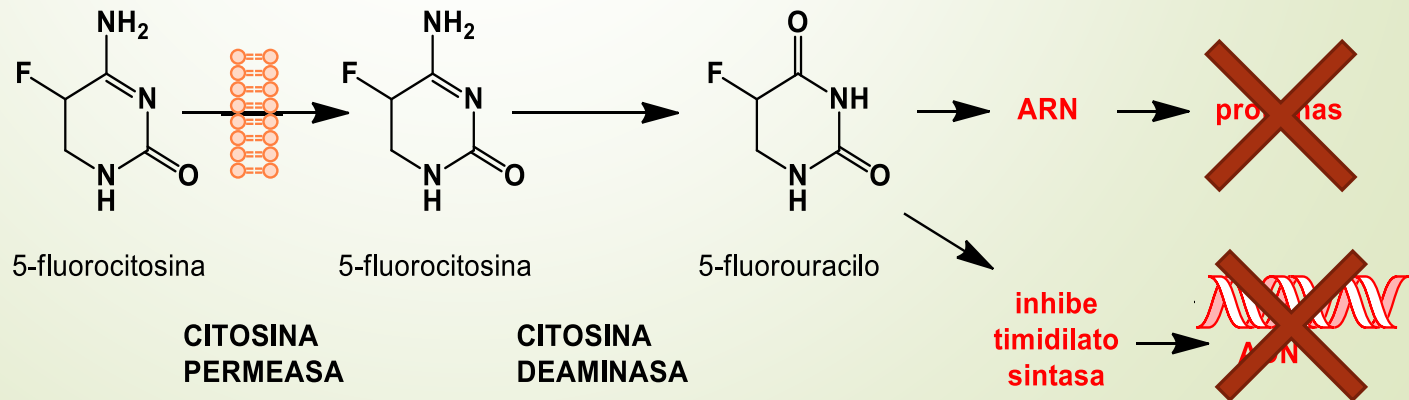
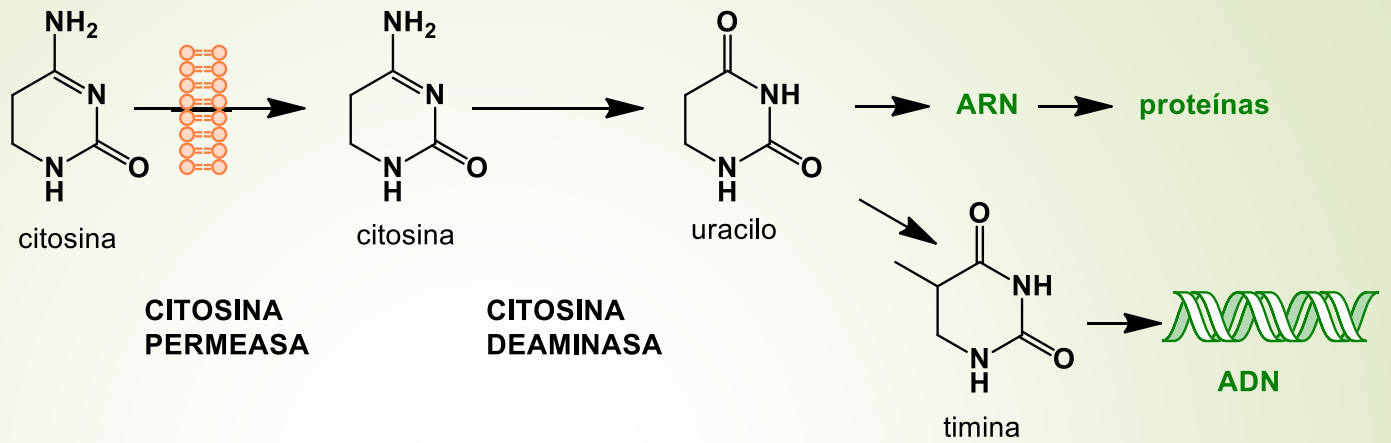
**VALEANT**  
Pharmaceuticals North America LLC

**Usual Dosage:** For dosage recommendations and other important prescribing information, read accompanying insert.

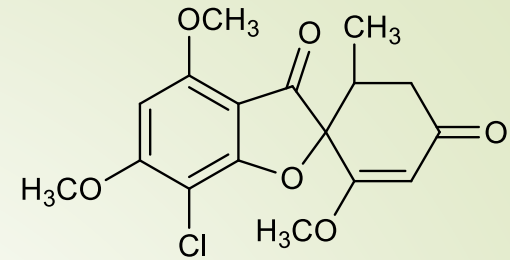
Mfd. in Canada by: Valeant Pharmaceuticals International, Inc.  
Steinbach, MB R5G 1Z7 Canada  
Dist. by: Valeant Pharmaceuticals North America LLC  
Bridgewater, NJ 08807 USA

**Store at 25°C (77°F); excursions permitted to 15°C - 30°C (59°F - 86°F).**

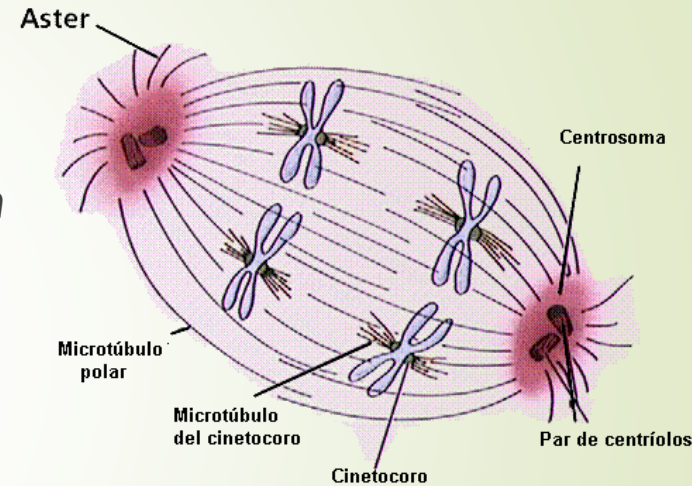
LL0846-00  
Rev. 02/13



# Griseofulvina



- Estructura: benzofurano
- Origen: *Penicillium griseofulvum*
- Acción: inhibe la mitosis al destruir el huso mitótico durante la división celular



# Clasificación según su sitio de acción

## Membrana

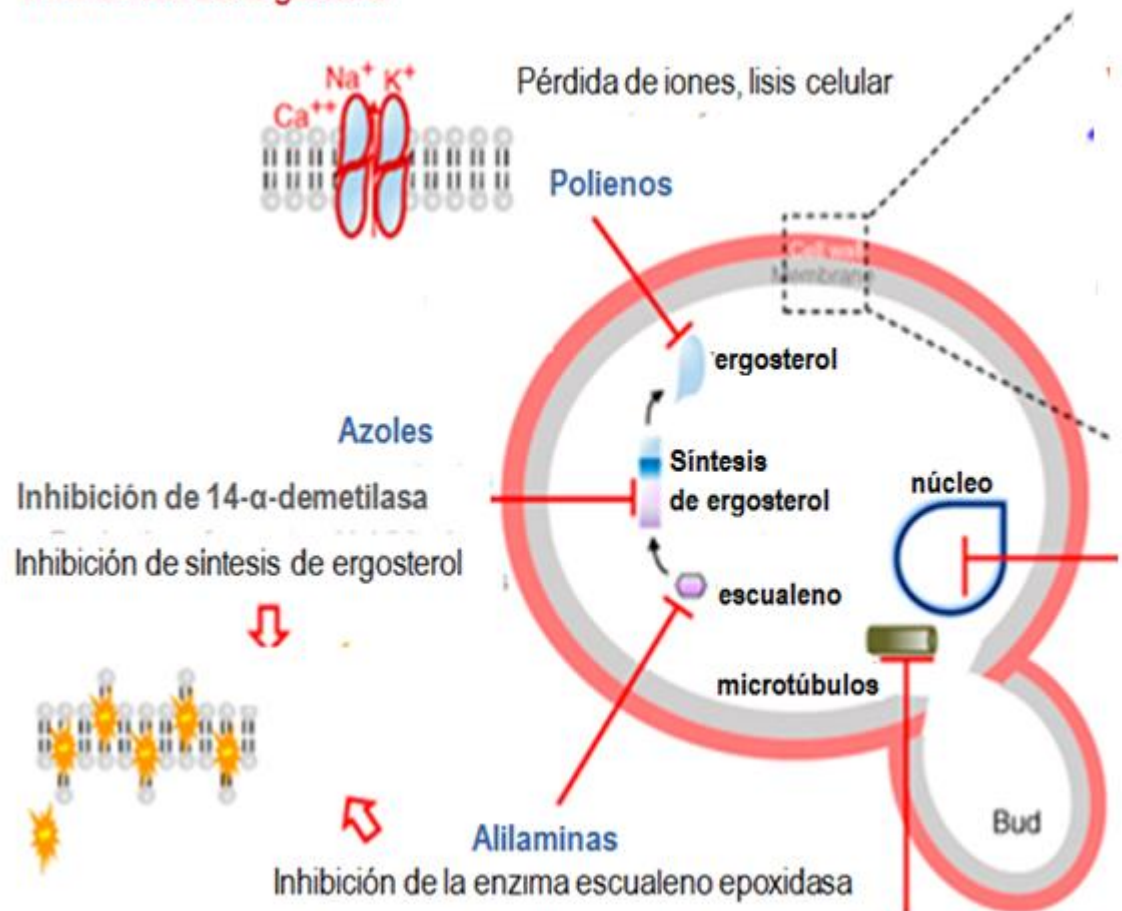
Síntesis de ergosterol

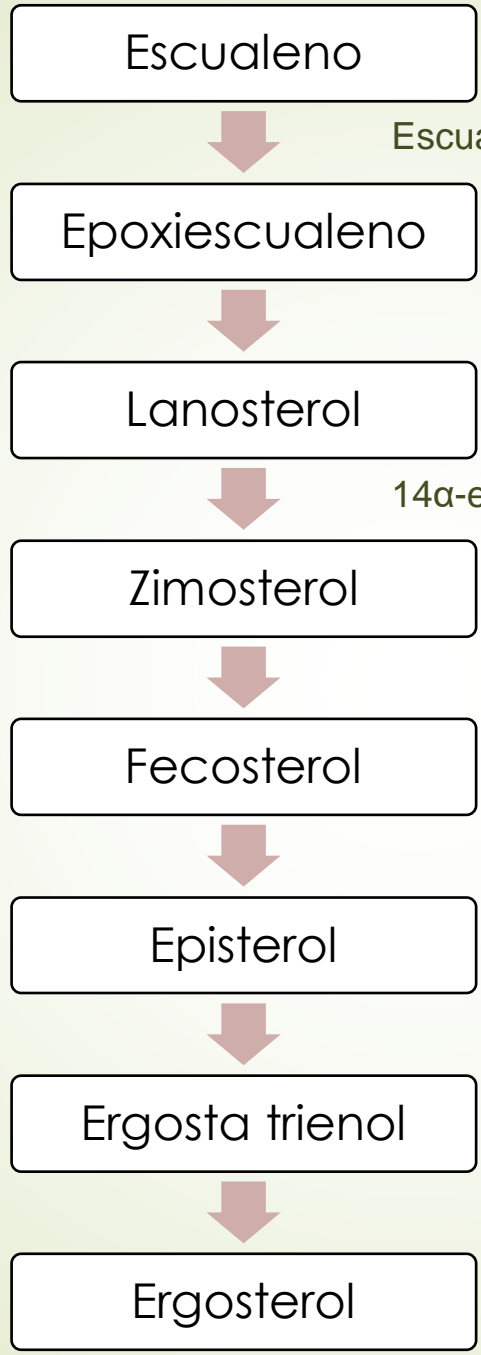
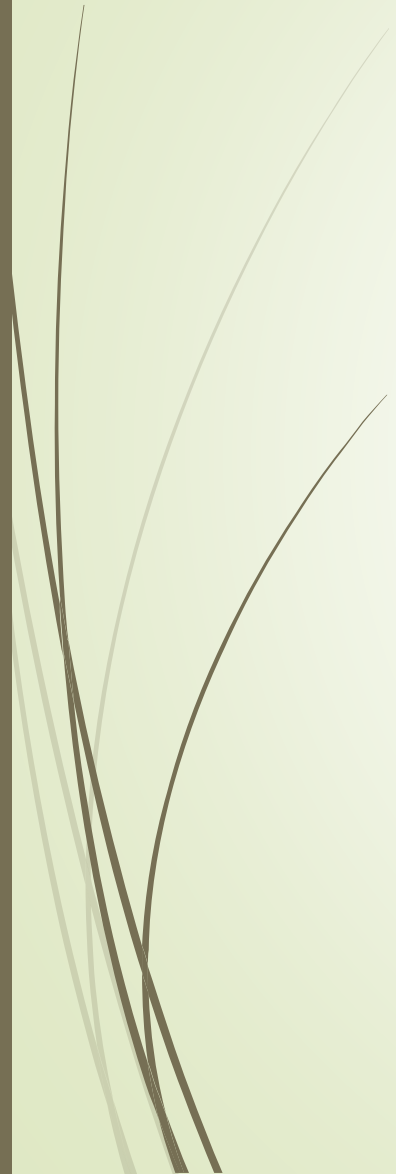
**Azoles**  
**Alilaminas**

Integridad física

**Polienos**

### 1. Inhibición del ergosterol





Escualeno epoxidasa



**ALILAMINAS**

14 $\alpha$ -esterol demetilasa



**AZOLES**

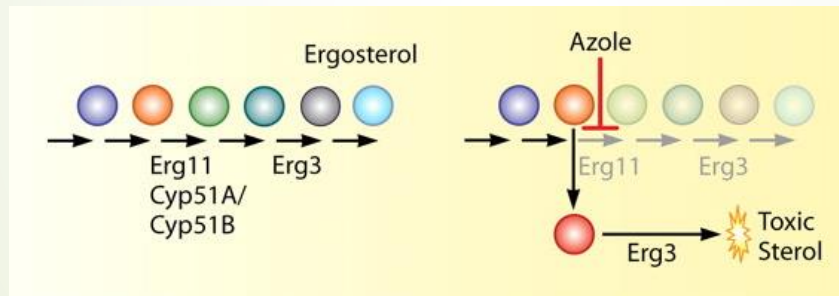
24- metileno  
dihidrolanosterol  
demetilasa



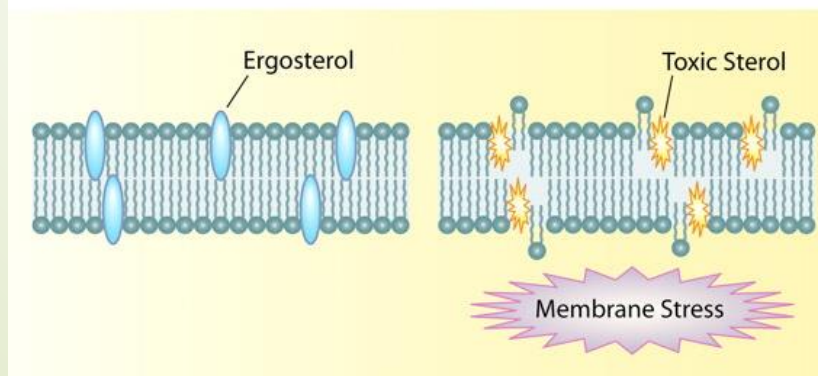
**VORICONAZOL**

# Azoles

- Origen: sintético
- Acción: inhiben 14 $\alpha$  esteroil demetilasa
- Son fungistáticos
- Espectro de acción: amplio

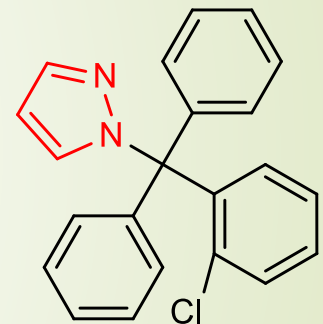


**Mechanism of Action**



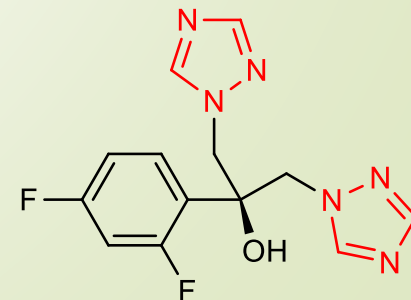
## Imidazoles

Clotrimazol



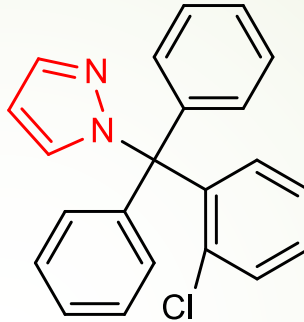
## Triazoles

Fluconazol



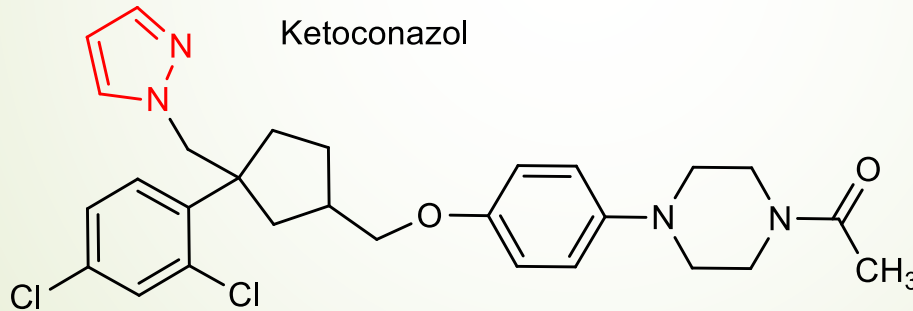
# Imidazoles

Clotrimazol



**Ketoconazol** oral, tópico  
**Clotrimazol** tópico  
**Econazol** tópico  
**Butoconazol**  
**Isoconazol** tópico  
**Bifonazol** tópico  
**Miconazol** tópico, i.v.

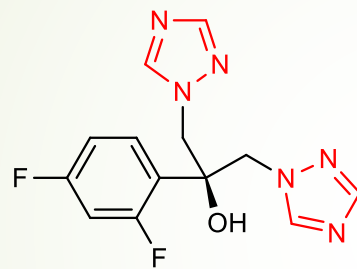
Ketoconazol



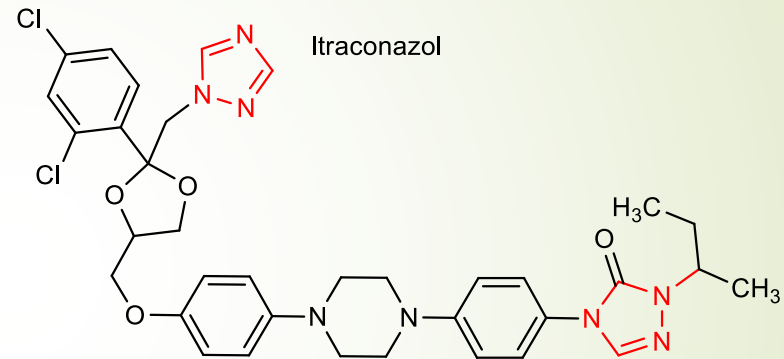
# Triazoles

## Primera generación

Fluconazol



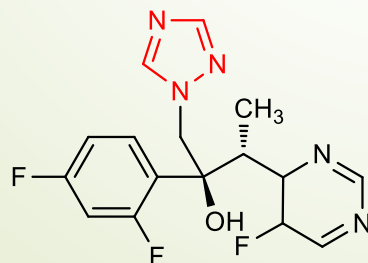
Itraconazol



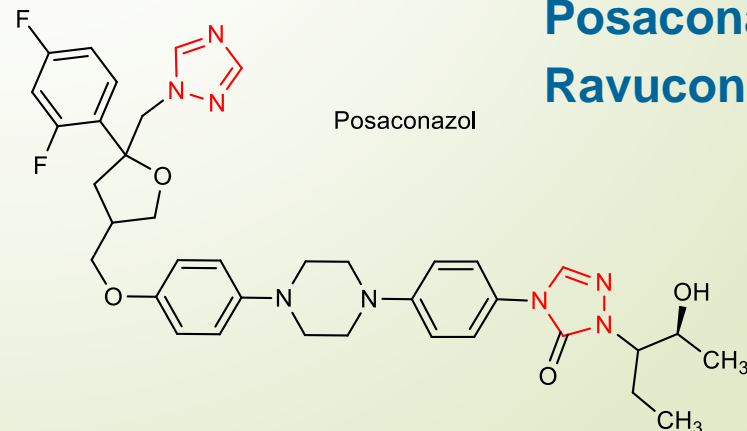
**Fluconazol oral, iv.**  
**Itraconazol oral**

## Segunda generación

Voriconazol



Posaconazol

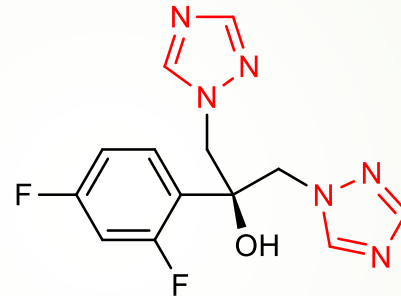


**Voriconazol oral, iv.**  
**Posaconazol oral**  
**Ravuconazol oral**

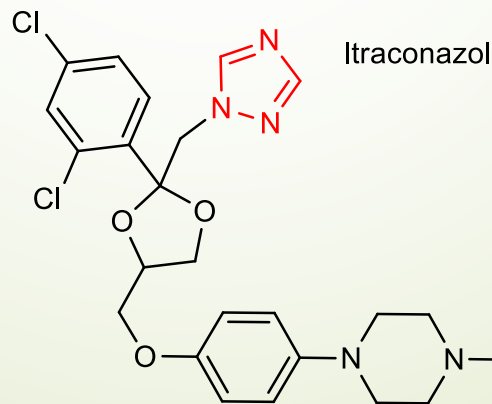
# Triazoles de primera generación



Fluconazol



- hidrosoluble
- administración oral y endovenosa
- penetra muy bien en fluidos corporales.

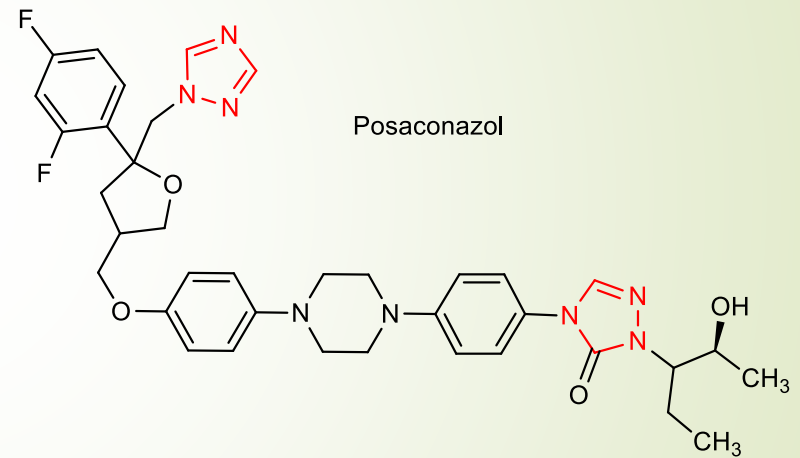
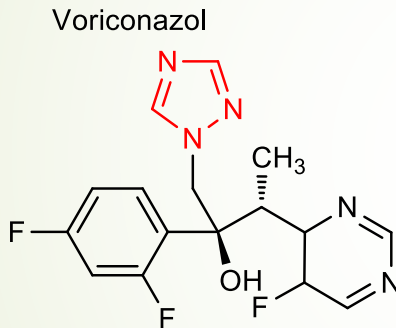


Itraconazol

- lipofílico
- se distribuye en tejido grasos
- penetración en fluidos acuosos limitada

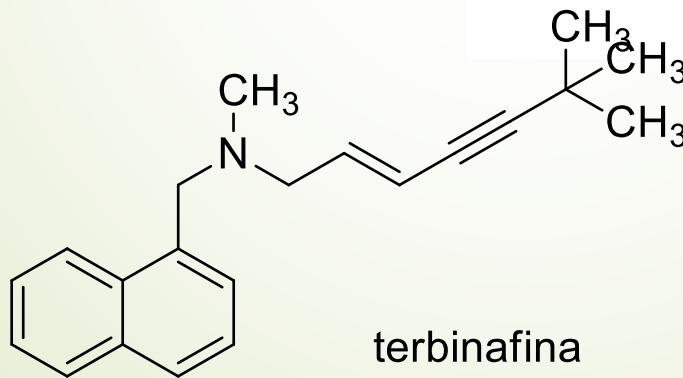
# Triazoles de segunda generación

- Mayor espectro de acción
- Actúa sobre especies resistentes al FCZ

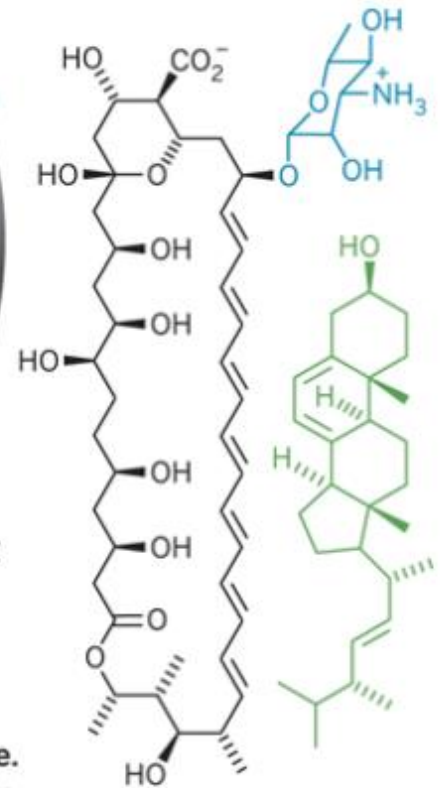
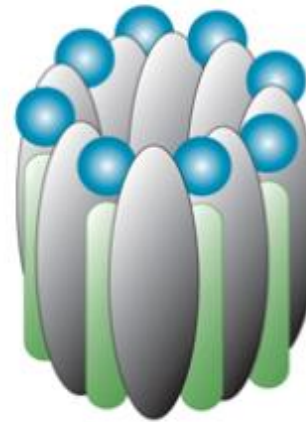
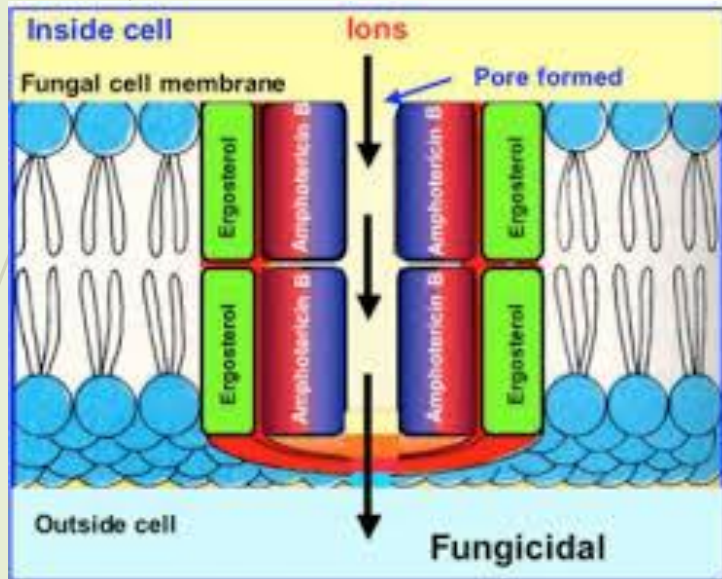


# Alilaminas

- Origen: sintético
- Acción: inhiben escualeno epoxidasa
- Espectro de acción: principalmente dermatofitos







### DEATH RING

Computer modeling suggests a set of eight amphotericin B molecules forms an ion channel in a yeast cell membrane. A binding interaction (right) between ergosterol (green) and the mycosamine group (blue) of amphotericin B enables the drug to form the channels, which kill the yeast.

# Anfotericina B

- ☺ Fungicida
- ☺ Amplio espectro
- ☺ Baja tasa de resistencia
- ☹ Insoluble en agua

## AMB desoxicolato

- Efectos tóxicos agudos y acumulativos.
- Nefrotoxicidad, pérdida de electrolitos.



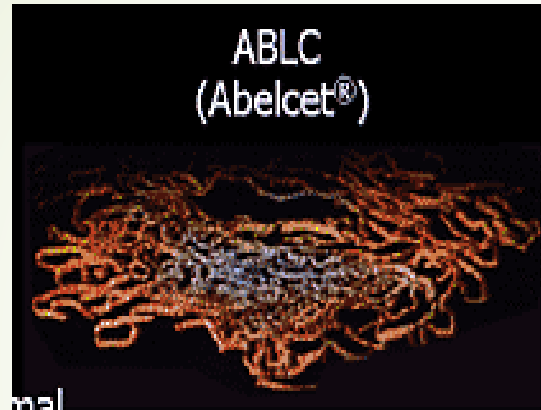
## AMB formulaciones lipídicas

- Reduce la toxicidad de la droga
- Permite el uso de dosis más altas
- Mejora el rendimiento terapéutico
- Asegura mayor concentración en el sitio de infección.

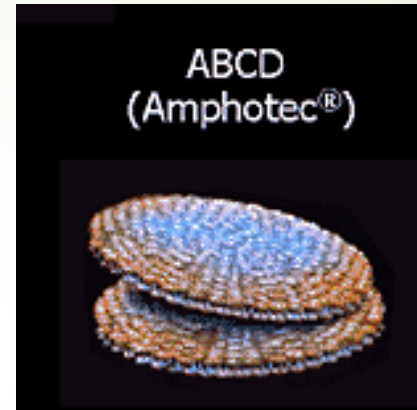


# AMB formulaciones lipídicas

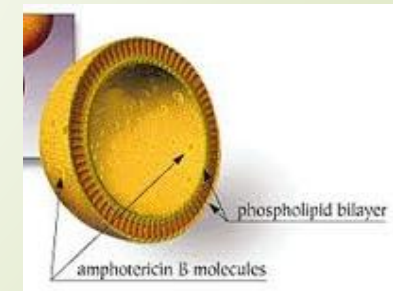
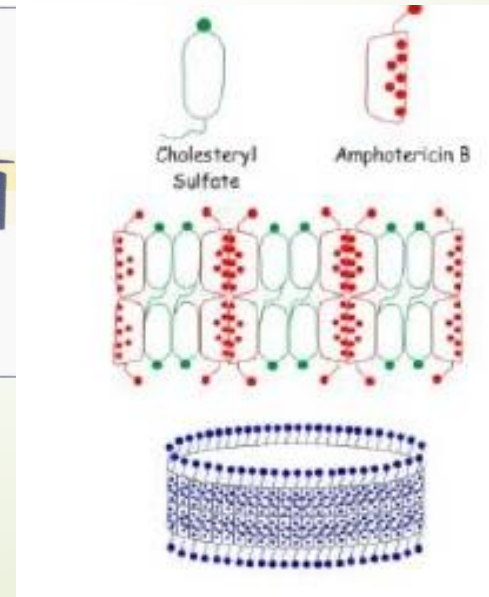
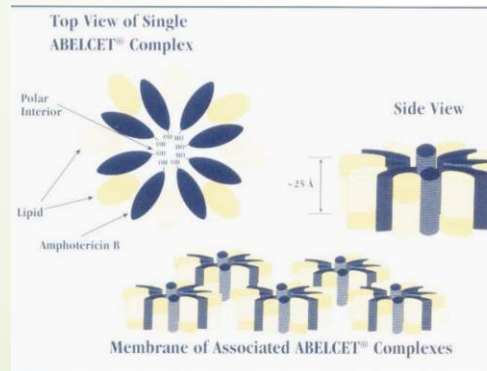
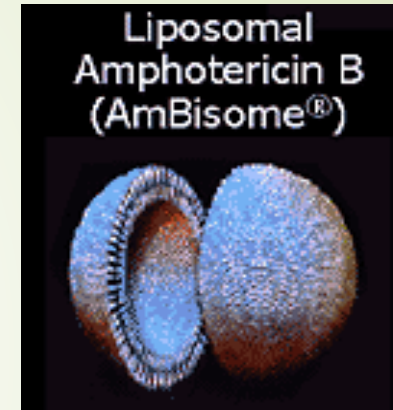
COMPLEJO  
LIPIDICO



DISPERSIÓN  
COLOIDAL



LIPOSOMAL



# Clasificación según su sitio de acción

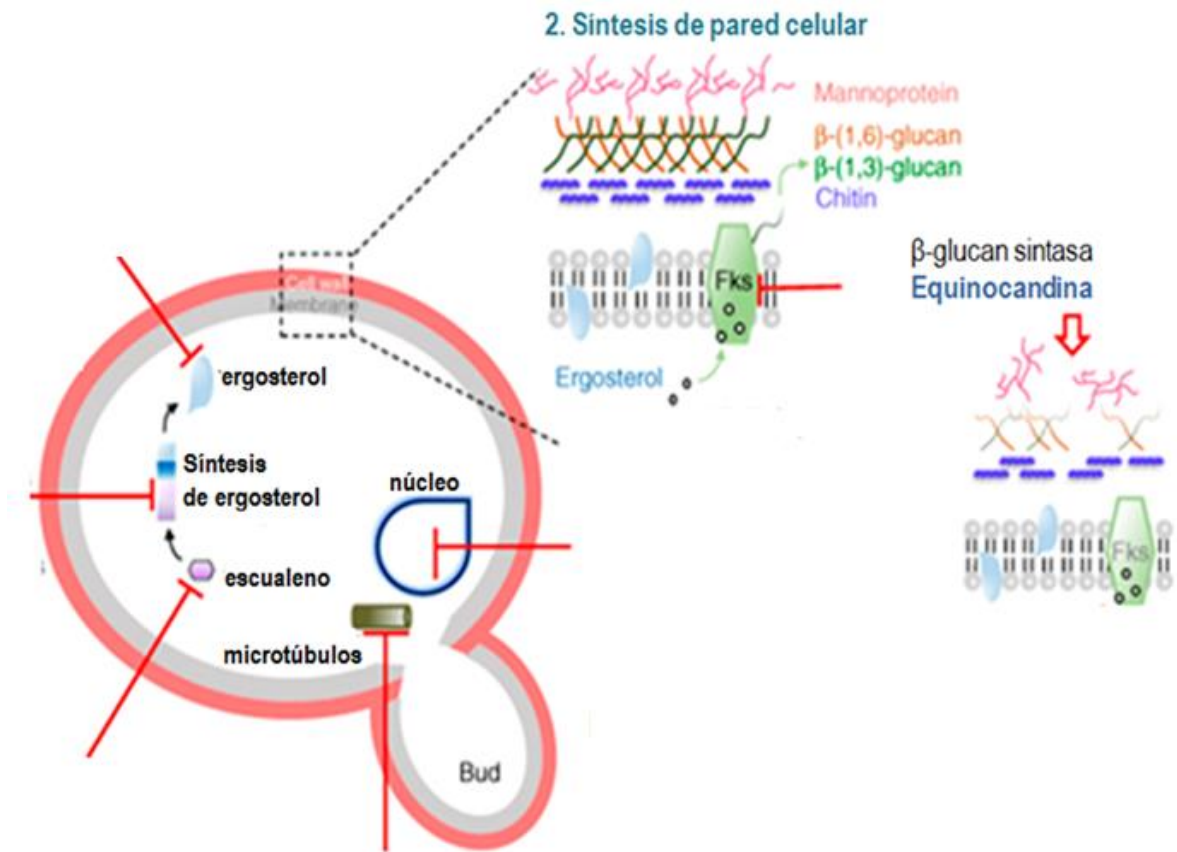
## Pared

Síntesis de glucanos

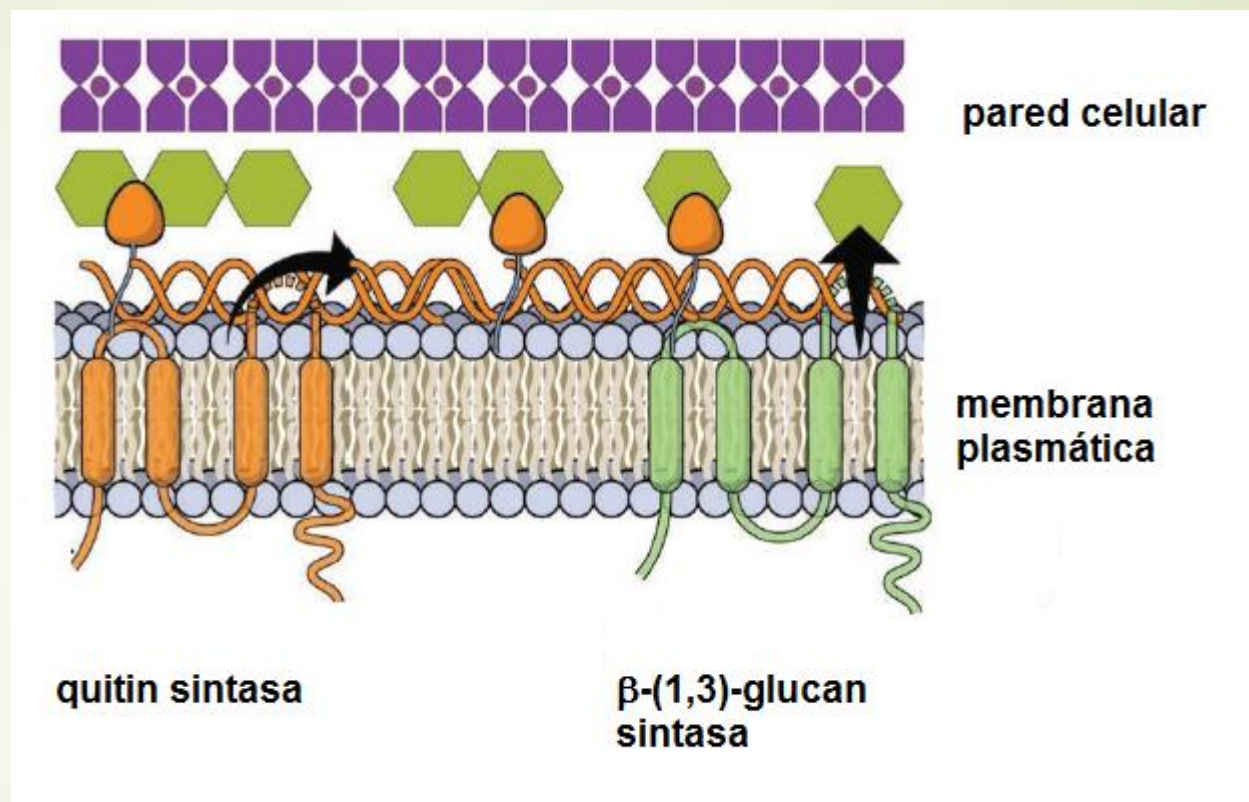
Lipopéptidos

Síntesis de quitina

Nucleósido-péptidos



# Antifúngicos que actúan sobre la pared celular fúngica

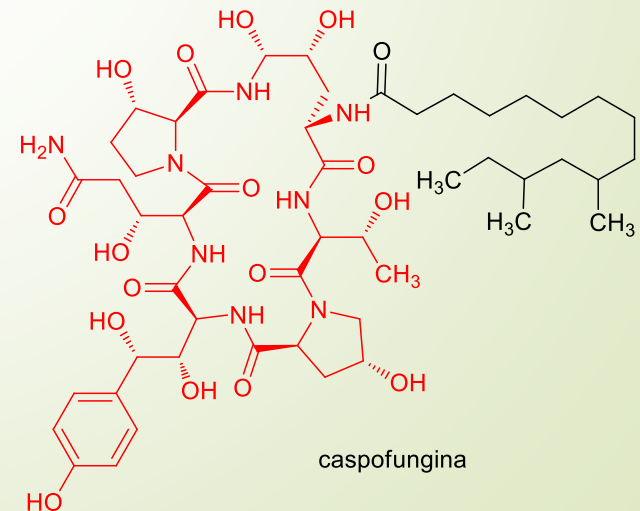
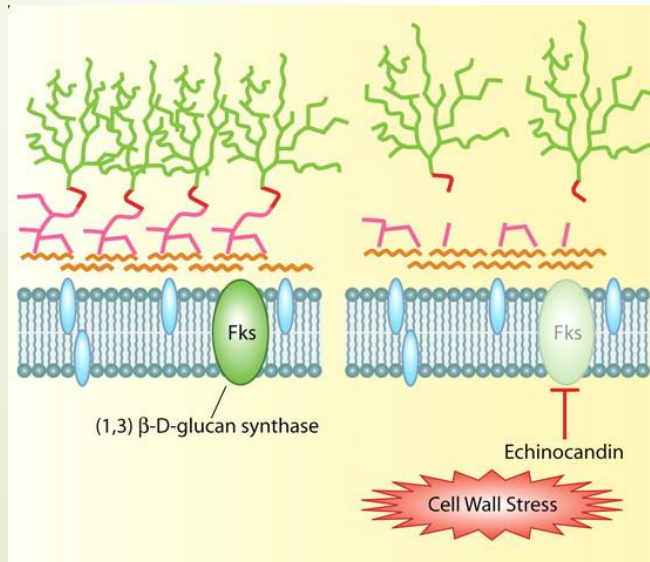


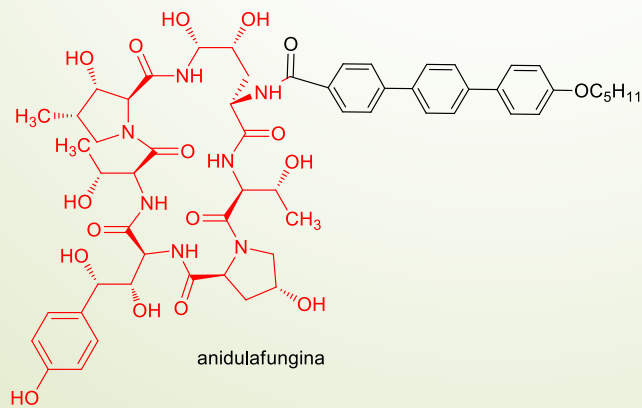
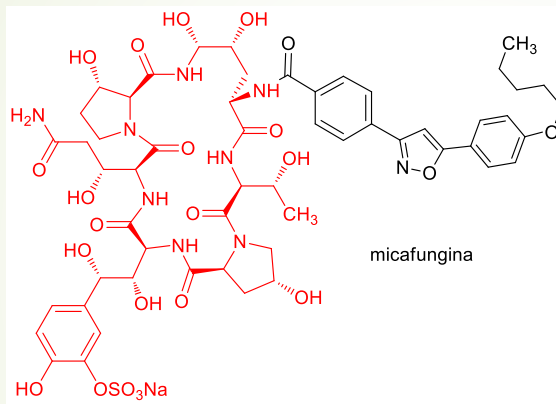
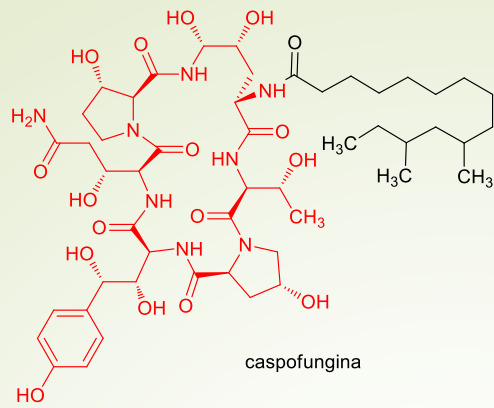
- **síntesis de la quitina**
- ❖ Nucleósido-péptidos
  - Polioixina B
  - Nikkomicina

- **Síntesis de glucanos**
- ❖ Lipopéptidos
  - Anidulafungina
  - Micafungina
  - Caspofungina

# Lipopéptidos (Equinocandinas)

- Origen: derivados semisintéticos de productos naturales
- Estructura: hexapéptidos cíclicos
- Acción: inhiben la enzima 1,3-β-D-glucan sintasa
- Amplio espectro pero existen cepas y especies resistentes





# Historia de los Antifúngicos

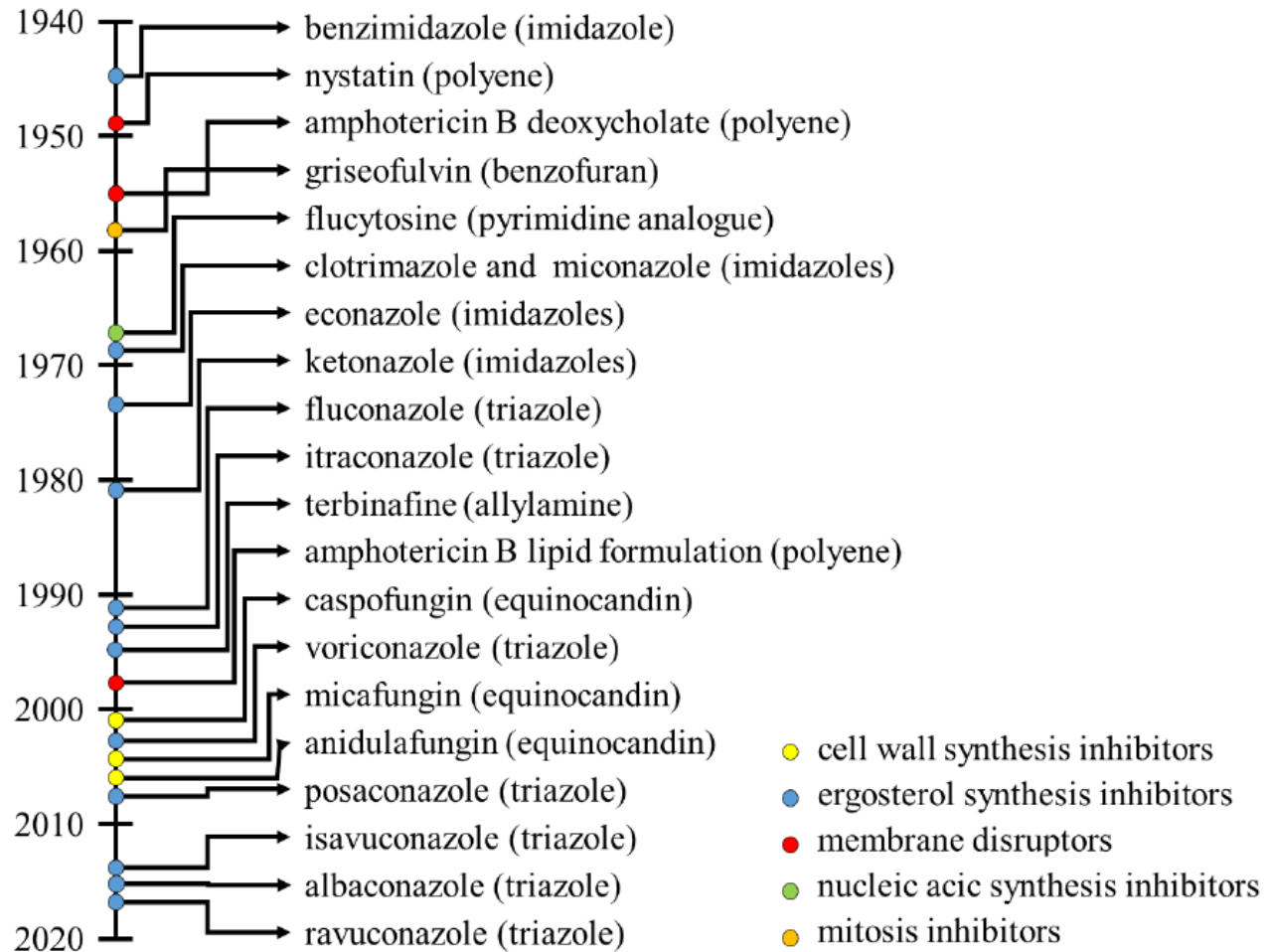



Figure 1. History of antifungal agents.



# Problemas de los antifúngicos

- Limitado espectro de acción
- Acción fungistática
- Baja eficacia clínica
- Recurrencia de las infecciones
- Efectos adversos e interacciones
- Toxicidad
- Altos costos
- Resistencia



Estado inmunológico  
Sitio de infección

Hospedero



Antifúngico

Farmacocinética  
Penetración  
Interacciones



Hongo

Resistencia  
Tamaño de la población  
Virulencia

# Tipos de resistencia

**Microbiológica**

Falla de la droga en  
inhibir el crecimiento  
*in vitro*

**Clínica**

Falla en la terapia

Susceptibilidad  $\neq$  tratamiento exitoso

Resistencia  $\approx$  tratamiento fallido

# Resistencia microbiológica

una cepa es resistente a un antifúngico cuando su Concentración Inhibitoria Mínima es más elevada que la habitual para esa especie

**intrínseca**

**adquirida**

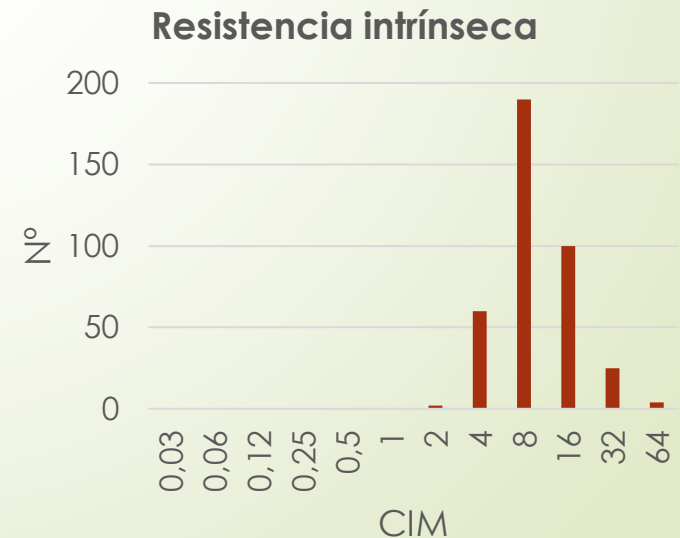
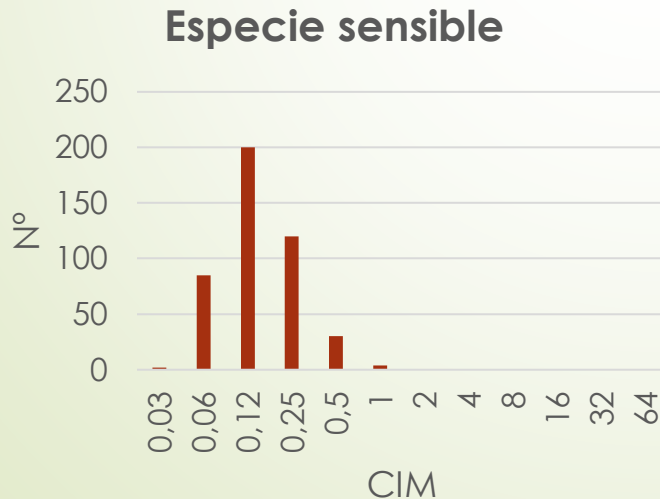
primaria

secundaria

# RESISTENCIA MICROBIOLÓGICA

**RESISTENCIA INTRÍNSECA:** cuando ningún miembro de una especie es sensible a un ATF . Se clasifica como insensible, ya que se trata de una especie y no de alguno de sus miembros.

**Ejemplo:** *Candida krusei* y fluconazol

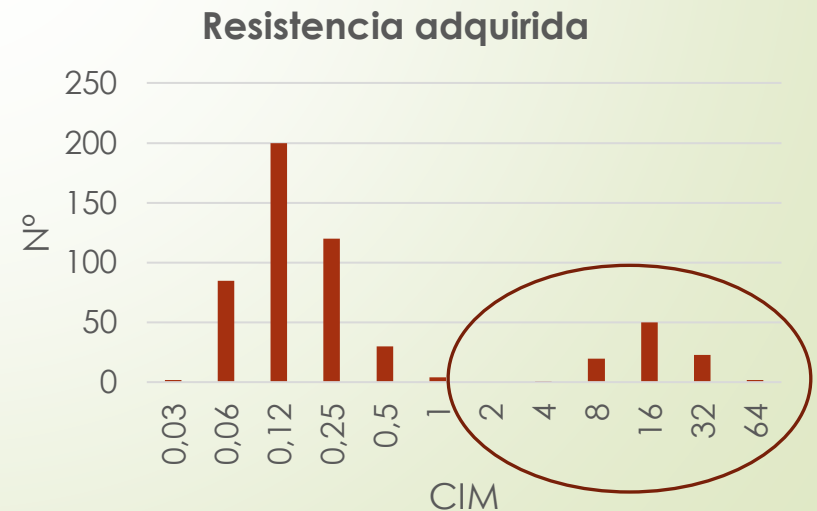
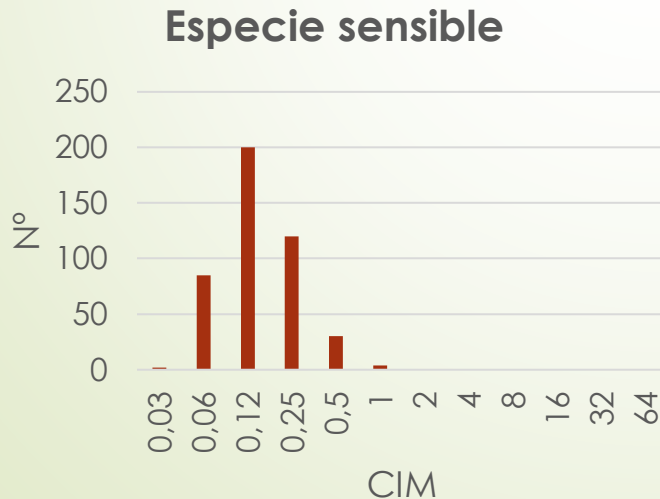


# RESISTENCIA MICROBIOLÓGICA

**RESISTENCIA ADQUIRIDA:** cuando una cepa perteneciente a una especie normalmente sensible al ATF, adquiere resistencia al mismo

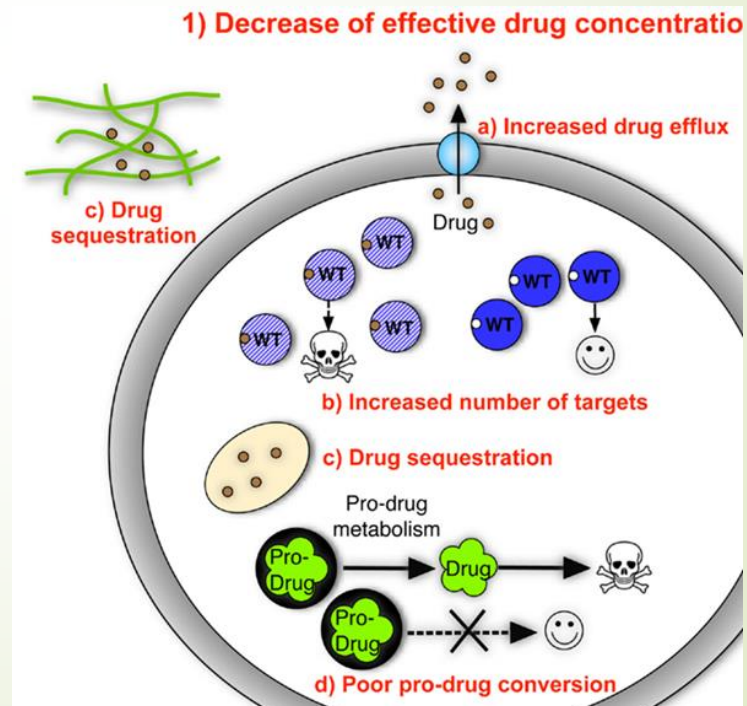
- **RESISTENCIA PRIMARIA:** sin haber estado en contacto con el compuesto
- **RESISTENCIA SECUNDARIA:** tras haber entrado en contacto con él

**Ejemplo:** *Candida albicans* y fluconazol



# MECANISMOS MOLECULARES DE LA RESISTENCIA

- **Disminución de la concentración citoplasmática efectiva**
  - a. aumento de las bombas de eflujo
  - b. sobreexpresión de enzima blanco
  - c. secuestro de la droga
  - d. pobre conversión de pro-droga

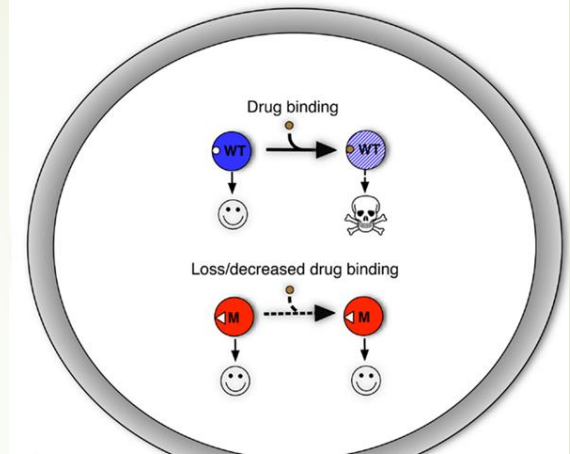


# MECANISMOS MOLECULARES DE LA RESISTENCIA

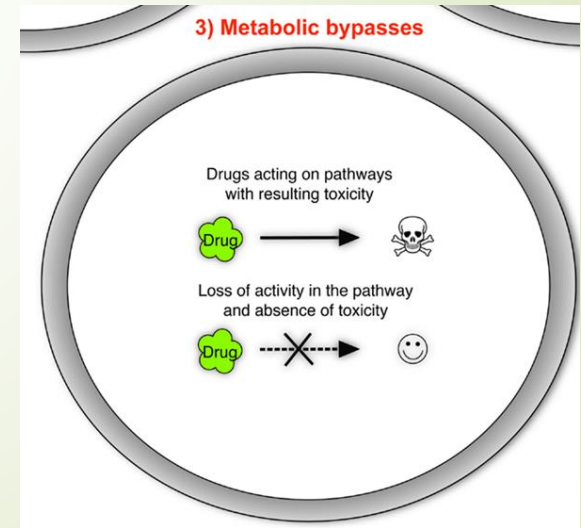
- Disminución de la afinidad de la enzima blanco por la droga

- Bypass metabólico

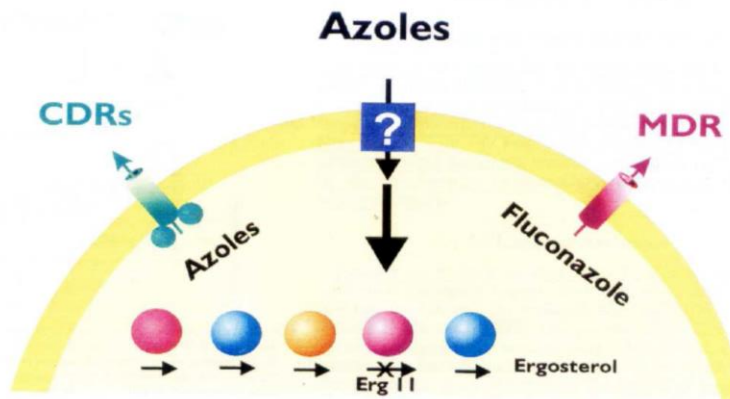
## 2) Drug target alterations



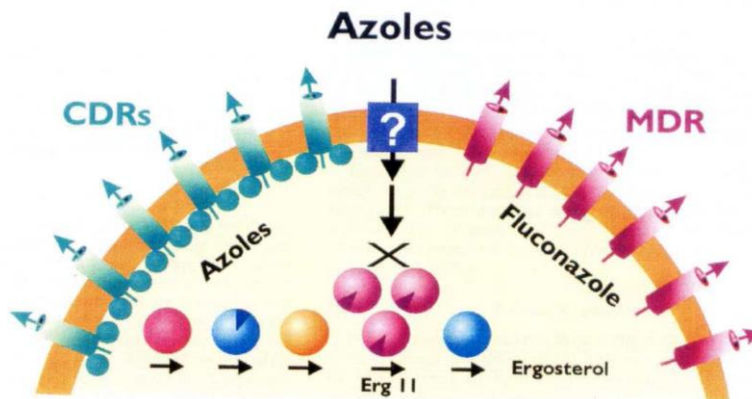
## 3) Metabolic bypasses



## *Mecanismo de acción de los azoles Célula sensible*



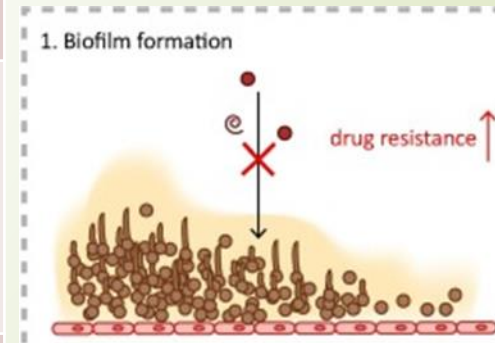
## *Azoles: Mecanismos de resistencia*




# RESISTENCIA CLÍNICA

- crecimiento o falta de inhibición de un microorganismo en el foco de infección, aunque en éste existan concentraciones terapéuticas del fármaco

<b>FACTORES DEL HOSPEDERO</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ La respuesta inmune del hospedero</li><li>➤ La penetración de las drogas</li><li>➤ Foco de infección persistente o protegido</li><li>➤ Falta de correlación <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i></li></ul>
<b>FACTORES FÚNGICOS</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Cepas, variedades o especies más virulentas</li><li>➤ El tamaño de la población</li><li>➤ La presión selectiva de poblaciones resistentes</li><li>➤ Presencia de biopelículas (biofilms)</li></ul>
<b>FACTORES DEL FÁRMACO</b>	<ul style="list-style-type: none"><li>➤ Drogas fungistáticas</li><li>➤ Absorción, distribución, metabolismo</li><li>➤ Dosificación</li><li>➤ Interacciones</li></ul>





# Pruebas de sensibilidad a antifúngicos

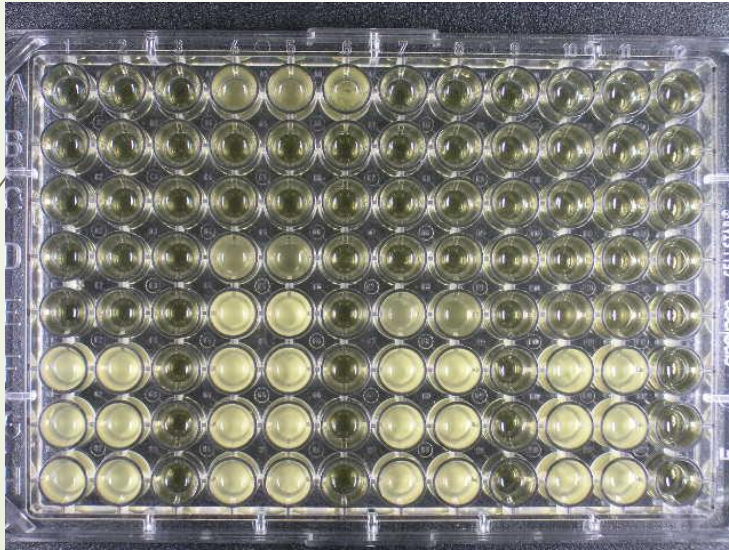
**Objetivo:** Conocer si los microorganismos son sensibles o resistentes a los antifúngicos

## Utilidad

- ▶ 1) conocer la actividad in vitro de los antifúngicos
- ▶ 2) predecir el resultado terapéutico de un tratamiento
- ▶ 3) controlar la aparición de cepas resistentes
- ▶ 4) correlacionar la actividad in vitro con los resultados in vivo
- ▶ 5) determinar la utilidad terapéutica de los nuevos antifúngicos

# Tipo de pruebas

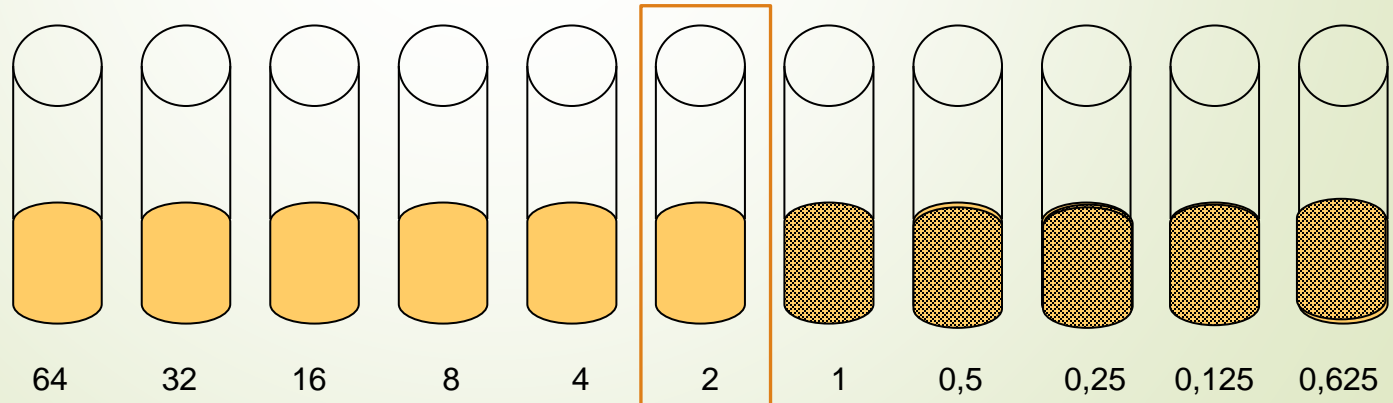
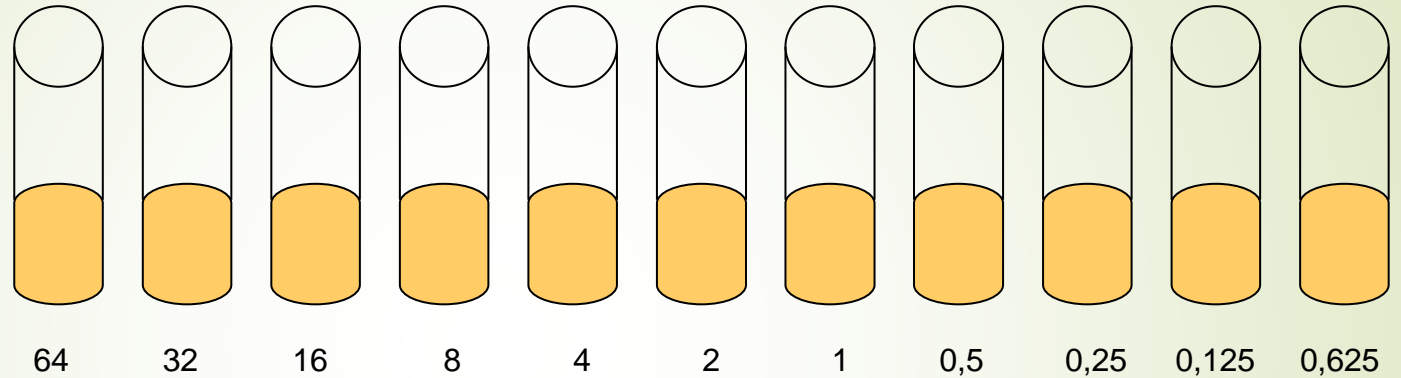
## Dilución en caldo



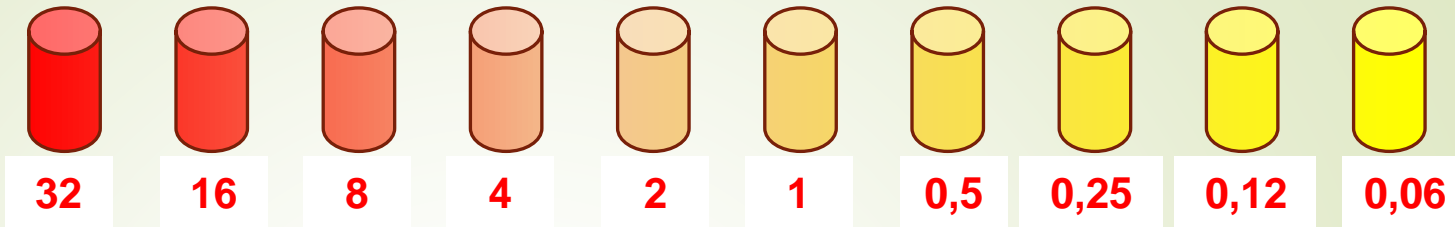
## Difusión en agar



# Dilución en caldo



Concentración Inhibitoria Mínima (CIM)



**Ejemplo:**

Hongo: *Candida albicans*

Antifúngico: Fluconazol



**CIM: Concentración Inhibitoria Mínima = 8  $\mu\text{g}/\text{mL}$**

**Puntos de corte**

$\leq 2 \mu\text{g}/\text{mL} \rightarrow$  Susceptible

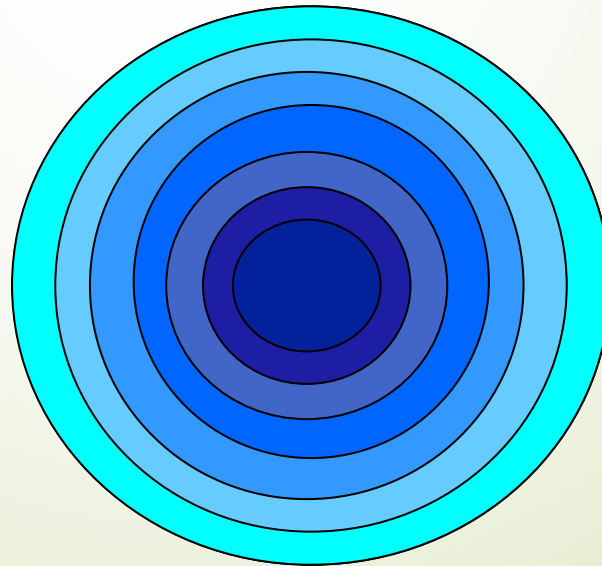
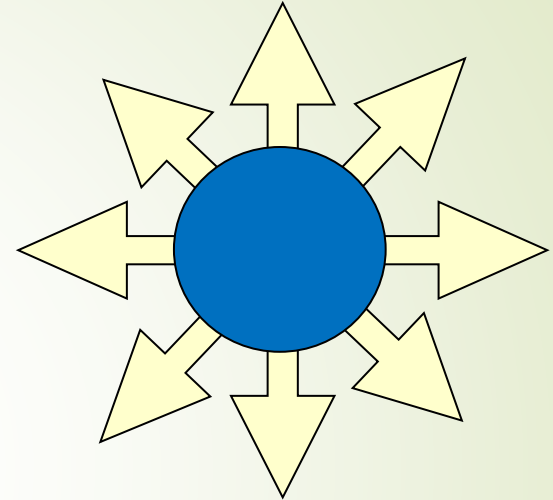
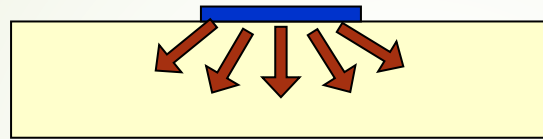
$4 \mu\text{g}/\text{mL} \rightarrow$  Susceptible Dosis Dependiente

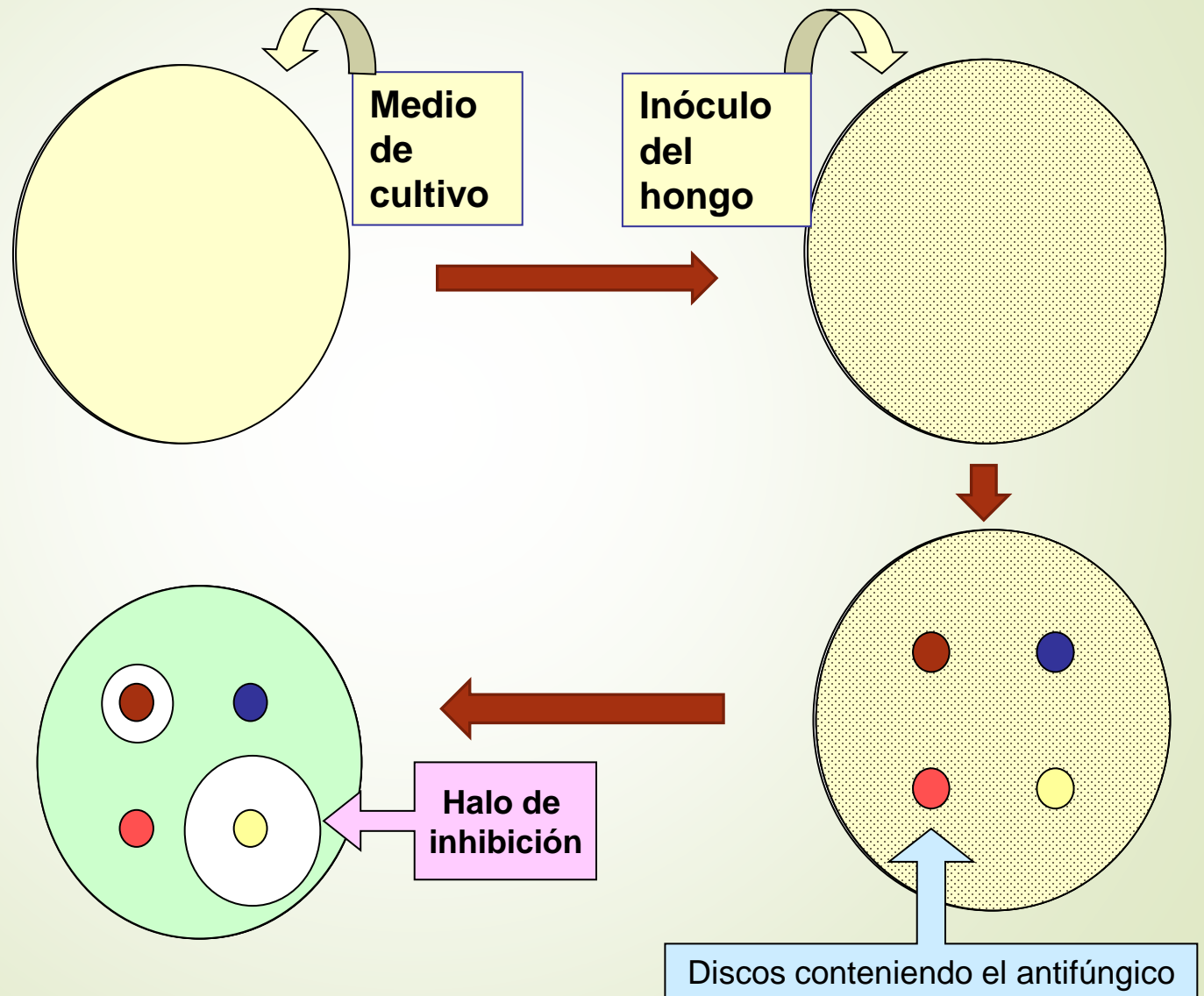
$\geq 8 \mu\text{g}/\text{mL} \rightarrow$  Resistente

**Interpretación**

La especie en estudio es resistente al fluconazol

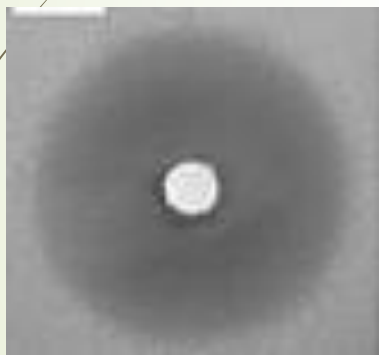
# Difusión en agar





# Interpretación de Resultados

	Diámetro del halo (en mm)		
	Sensible	Intermedia	Resistente
Anfotericina B	$\geq 15$	14-10	$< 10$
Fluconazol	$\geq 19$	18-15	$\leq 14$
Itraconazol	$\geq 15$	14-10	$< 10$
Voriconazol	$\geq 17$	16-14	$\leq 13$



## **Ejemplo:**

Hongo: *Candida albicans*

Antifúngico: Anfotericina B

Halo observado: 24 mm

Interpretación: Sensible



## **Ejemplo:**

Hongo: *Candida albicans*

Antifúngico: Anfotericina B

Halo observado: 9 mm

Interpretación: Resistente

# Factores que limitan su utilidad

- el “entorno”
- el tipo de hospedador
- el tipo de microorganismo
- la concentración del antimicrobiano
- el inóculo del microorganismo

## Estandarización

- Preparación, almacenamiento y dilución de los antifúngicos
- Preparación del inóculo
- Tamaño del inóculo
- Elección del medio de cultivo
- Temperatura de incubación
- Duración de la incubación
- Lectura e interpretación de los resultados



# Métodos de referencia

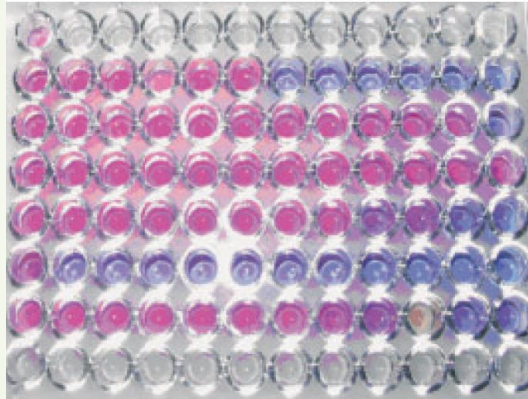
- ▶ **Estándar:** Un documento desarrollado a través de un proceso de consenso que identifique y establezca lineamientos esenciales de materiales, métodos y prácticas de una metodología.
- ▶ Provee una base para el desarrollo de otros métodos
- ▶ Asegura la reproducibilidad interlaboratorio
- ▶ Fácil realización, económicos, resultados rápidos

**CLSI:** Clinical and Laboratory Standard Institute

**EUCAST:** European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

# Equipos comerciales basados en método de dilución

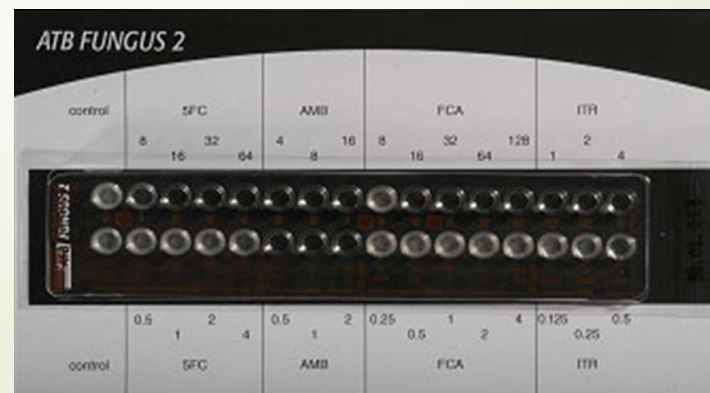
- **Sensitre Yeast Plos One** (Trek Diagnostic Systems)



- **Fungitest** (Sanofi Diagnostic Pasteur)



- **ATB Fungus 2** (bioMérieux)

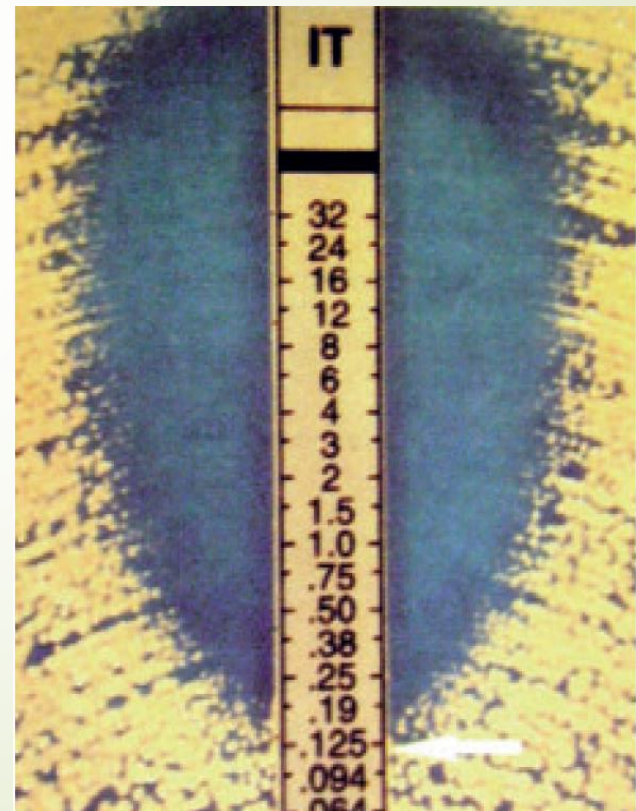


# Equipos comerciales basados en el método de difusión

➤ NeoSensitabs (A/S Rosco)



➤ E-test (AB Biodisk)



# Automatización

➤ **Vitek 2** (BioMérieux)



➤ **WIDER I** (Soria Melguizo)



➤ **Biomic V3**  
(Giles Scientific)

