

Búsqueda de nuevos compuestos con actividad fungicida contra *Candida* spp.

Search for new compounds with fungicidal activity against *Candida* spp.

Ariadna Paola Rodríguez-Rivas¹, Andrea Jackeline Salgado-Rodriguez¹, Karol Elizabeth Vázquez-González¹, Manuela Gómez-Gaviria¹, Héctor Manuel Mora-Montes¹ *

¹ Departamento de Biología, División de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Guanajuato ([*hmmora@ugto.mx](mailto:hmmora@ugto.mx))

Resumen

En los últimos años, las infecciones fúngicas han aumentado de forma alarmante, tanto en incidencia como en gravedad. De las más de 150 especies de *Candida*, menos de 10 son responsables de infecciones importantes en humanos. La capacidad de *Candida* para alternar entre formas de pseudohifas e hifas verdaderas está estrechamente relacionada con su potencial patógeno. Aunque existe una gama de medicamentos antifúngicos para el tratamiento de la candidiasis, las especies de relevancia clínica han demostrado ser resistentes a estos, dificultado su tratamiento. Dentro de los mecanismos de resistencia más conocidos se encuentran mutaciones en el gen *ERG11*, sobreexpresión de bombas de eflujo, modificaciones en la biosíntesis de esteroides y alteraciones en los glucanos de la pared celular. Teniendo en cuenta esta información, es necesario continuar con la búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas para tratar la candidiasis. En este trabajo, se analizó la susceptibilidad y resistencia de 10 especies de *Candida* al ponerse en interacción con siete compuestos con posible actividad antifúngica. Utilizando el ensayo de microdilución para levaduras M27-A3 se encontró que los diferentes compuestos analizados resultaron tener un efecto negativo sobre el crecimiento de la mayoría de las especies estudiadas, excepto *C. guilliermondii*. Estos resultados sugieren que los compuestos ITX-1, JOD-1, JOD-2, JOD-3, EGL-7, AAP-8 y CON-11 podrían tener un gran potencial terapéutico contra *Candida* spp.

Palabras clave: antifúngico, *Candida* spp., candidiasis, patógeno, resistencia, susceptibilidad.

Introducción

Las infecciones fúngicas presentan una distribución mundial, y aunque no se consideran tan comunes como las bacterianas y virales, se asocian a una severa morbilidad y mortalidad (Sosa *et al.*, 2001). Entre las micosis más frecuentes se encuentran las causadas por miembros de los géneros *Candida*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Histoplasma*, *Pneumocystis*, *Mucor* y *Sporothrix*, las cuales han sido tratadas durante años con fármacos antimicóticos convencionales, como flucitosina, azoles, polienos y equinocandinas. Sin embargo, estos microorganismos han adquirido la capacidad de evadir los mecanismos de acción de estos fármacos, dificultando así su tratamiento (Gómez-Gaviria *et al.*, 2024).

El género *Candida* spp. incluye levaduras que no producen pigmentos melánicos y cuyas formas varían según la especie, siendo globosas, ovoides, elípticas o cilíndricas. Su reproducción asexual se realiza mediante blastoconidios (Trujillo *et al.*, 2020). Las especies de este género son dimórficas, es decir, tienen la capacidad de transformarse de una fase de levadura con gemación, a una invasiva, con crecimiento de micelios, la cual es necesaria para infectar los tejidos, con la excepción de *Candida glabrata* (Bershow *et al.*, 2023).

Las especies del género *Candida* son consideradas patógenos oportunistas, de manera natural se encuentran como parte de la microbiota humana residente, donde generalmente no causan enfermedad. Sin embargo, cuando las defensas del hospedero se ven afectadas, estos hongos pueden provocar diferentes tipos de infecciones, que pueden ir desde afecciones de la piel y mucosas hasta infecciones sistémicas, potencialmente mortales (Ryan *et al.*, 2022). Aunque las infecciones causadas por la especie *Candida albicans* siguen siendo las más comunes, las especies no-*albicans* han tomado gran importancia en los centros hospitalarios en las últimas décadas. Dentro de estas especies las más comunes son *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *C. glabrata*, *Candida guilliermondii*, *Candida krusei*, *Candida metapsilosis*, *Candida auris*, *Candida orthopsilosis* y *Candida dubliniensis* (Lobaina-Rodríguez *et al.*, 2010; Sardi *et al.*, 2013).

La principal fuente de infección por *Candida* spp. en los humanos es endógena. En el caso de *C. albicans*, circunstancias como la pérdida del equilibrio de la microbiota o el compromiso de las defensas inmunitarias pueden provocar un aumento en la población de levaduras, lo que resulta en sobre colonización e invasión del hongo. Las fuentes de infección exógenas son las manos del personal médico, exposición con material contaminado como soluciones parenterales, soluciones

oftálmicas después de una cirugía, dispositivos médicos como catéteres, válvulas cardíacas y respiradores, entre otros (Rodríguez *et al.*, 2010). La transmisión por *Candida* spp. también puede ocurrir por contacto directo de las mucosas (ej. relaciones sexuales). Aunque, otro factor que aumenta el riesgo de infección es el uso prolongado de fármacos antibacterianos (Ryan *et al.*, 2022).

En los últimos años, se ha observado un incremento en los casos de resistencia de *Candida* spp. a los diferentes fármacos antifúngicos disponibles en el mercado, principalmente al itraconazol, fluconazol y flucitosina. Y aunque la mayoría de estos casos se atribuían a *C. albicans*, las especies no-*albicans* como *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei*, también han mostrado esta tendencia (Manzano-Gayosso *et al.*, 2008). La resistencia a los medicamentos se presenta cuando los aislados no pueden ser inhibidos por las concentraciones mínimas inhibitorias del agente terapéutico, lo que trae consigo un aumento en la probabilidad de ineficacia en el tratamiento del paciente (Mellado *et al.*, 2002; Pfaller *et al.*, 2012; Angiolella *et al.*, 2024). Dependiendo del fármaco y de la especie de *Candida* spp., pueden existir diferentes tipos de resistencia (Silva *et al.*, 2012). Entre los más comunes se encuentran la inducción de las bombas de eflujo codificadas por los genes *MDR* o *CDR*, alteraciones en la vía de biosíntesis de ergosterol, mutaciones puntuales en el gen *ERG11* y alteraciones en los glucanos de la pared celular (Pfaller *et al.*, 2012; Gómez-Gaviria *et al.*, 2023).

Como se mencionó, en los últimos años se ha observado un incremento en la frecuencia de resistencia a fármacos antimicóticos en las diferentes especies de *Candida* no-*albicans* y *C. albicans*, lo que plantea una necesidad entre la comunidad científica para encontrar nuevos compuestos con propiedades antimicóticas, con el potencial de ser utilizados como alternativas para tratar la candidiasis (Brown *et al.*, 2012; Gómez-Gaviria *et al.*, 2023). En el presente estudio, se analizaron diferentes compuestos con antecedentes de actividad antifúngica frente a distintas especies de *Candida* spp., con el propósito de determinar la sensibilidad del hongo hacia estos, esperando en un futuro puedan convertirse en una terapia alternativa.

Materiales y métodos

Especies de *Candida* spp. utilizadas y condiciones de cultivo

Se estudiaron diez especies diferentes de *Candida* (Tabla 1) que fueron proporcionadas por el Laboratorio de Glicobiología de hongos patógenos del Departamento de Biología, de la División de Ciencias Naturales y Exactas de la Universidad de Guanajuato. Las cepas se encontraban conservadas a -80 °C, en glicerol al 50 % y medio líquido Sabouraud [1 % (p/v) de peptona de carne y peptona de caseína, 4 % (p/v) de glucosa]. Para su posterior uso fueron cultivadas en medio líquido Sabouraud y se incubaron a 28 °C durante 24 h.

Tabla 1. Cepas de *Candida* spp. utilizadas en este estudio.

Cepas	Etiqueta	Organismo
N6Y152	132	<i>Candida albicans</i>
CLIB214	161	<i>Candida parapsilosis</i>
CAM2-662	322	<i>Candida glabrata</i>
WÜ284	146	<i>Candida dubliniensis</i>
T941366 ATCC62584-45	69	<i>Candida krusei</i>
HMY202	554	<i>Candida tropicalis</i>
SZMC 1545	314	<i>Candida orthopsilosis</i>
SZMC 1548	315	<i>Candida metapsilosis</i>
ATCC 6260	335	<i>Candida guilliermondii</i>

Compuestos evaluados con posible actividad antifúngica

Se evaluaron siete compuestos derivados de diferentes antifúngicos contra especies del género *Candida*. Todos los compuestos utilizados fueron proporcionados por la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, Cuernavaca.

- 1) ITX-1
- 2) JOD-1
- 3) JOD-2
- 4) JOD-3
- 5) EGL-7
- 6) AAP-8
- 7) CON-11

Ensayo de susceptibilidad a antifúngicos

Para determinar si se afecta la susceptibilidad de las diferentes especies de *Candida* frente a los compuestos mencionados anteriormente, se procedió a realizar el ensayo de microdilución para levaduras, M27-A3, método estandarizado por el CLSI (Lacasa *et al.*, 2007). Los ensayos se realizaron por duplicado.

Preparación del medio de cultivo para las pruebas de susceptibilidad

Para el llenado de las placas, se preparó el medio RPMI 1640 (Sigma-Aldrich) suplementado con piruvato 10 mM, glutamina 200 mM y penicilina-estreptomicina 100X. Además, de RPMI 1640 suplementado con ácido 3-morfolino propano sulfónico (MOPS) 0.164 M (Sigma-Aldrich) ajustado a pH 7.0.

Preparación de las diluciones del compuesto

La preparación de los compuestos se realizó siguiendo los lineamientos del protocolo M27-A3 para antifúngicos insolubles en agua. Para ello, se prepararon las concentraciones requeridas que van entre 16 y 0.03 µg/mL, utilizando como diluyente dimetil sulfóxido (DMSO). A partir de la solución madre se preparó una serie de diluciones a una concentración 100 veces superior a la concentración final deseada, utilizando también como diluyente DMSO. Posteriormente, se realizó una dilución 1/50 y se tomaron 100 µL del compuesto de cada tubo para posteriormente transferirlos a otro tubo que contenía 4.9 mL de RPMI, por lo que la concentración del compuesto fue dos veces mayor que la concentración final deseada (32 µg/mL 0.06 µg/mL). A cada uno de los pozos de la placa se le adicionaron 100 µL del compuesto.

Preparación del inóculo

Cada una de las especies de *Candida* utilizadas se pusieron a crecer en medio líquido Sabouraud a una temperatura de 28 °C durante 24 h. Pasado el tiempo de incubación, cada uno de los cultivos fueron observados al microscopio a un aumento de 40X, con la finalidad de descartar contaminación bacteriana. Posteriormente, con ayuda de un espectrofotómetro a una D.O. 530 nm se cuantificó el crecimiento de cada cultivo, y una vez obtenido este valor la densidad óptica fue ajustada a 0.5 según la escala de McFarland, la cual tiene una concentración aproximada de 1×10^6 - 5×10^6 UFC/mL. Posteriormente, se realizó una dilución 1:1000 con medio RPMI 1640 y esta dilución fue la que se utilizó para inocular 100 µL las placas. La concentración final de levaduras por pozo fue de 0.5×10^3 - 2.5×10^3 .

Llenado e incubación de las placas

Para el llenado de las placas se pusieron en interacción 100 μ L de los diferentes compuestos con sus respectivas diluciones y 100 μ L del inóculo del hongo previamente ajustado. Además, se utilizaron dos controles. El primer control se consideró como control de crecimiento, y para este se pusieron solamente 200 μ L del inóculo del hongo en dos pozos de la placa. El segundo control fue medio RPMI 1640, con la finalidad de descartar contaminación cruzada o por bacterias. Una vez que se pusieron los compuestos correspondientes y el inóculo del hongo, las placas se incubaron a 37 °C durante 48 h.

Lectura e interpretación de los resultados

Pasado el tiempo de incubación se tomó la absorbancia de cada una de las placas a una D.O. 530 nm. Tras las lecturas, se restaron a todos los pozos la absorbancia del control con RPMI 1640. Posteriormente, se determinó si las diferentes cepas presentaban resistencia o susceptibilidad a cada uno de los compuestos analizados, teniendo en cuenta los rangos ya estipulados en el protocolo M27-A3, los cuales están basados en la concentración mínima inhibitoria (CMI) (Tabla 2). Como referencia se compararon los resultados con los puntos de corte para el antifúngico itraconazol (Lacasa et al., 2007).

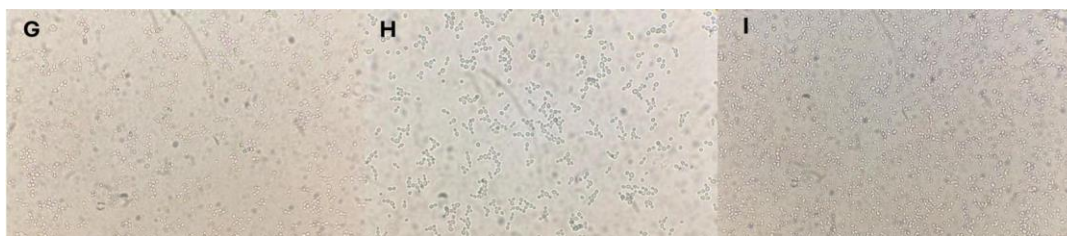
Tabla 2. Puntos de corte según el CLSI para el antifúngico itraconazol, tomados como referencia para determinar la actividad fungicida de los compuestos evaluados.

	CMI (μ g/mL)
Itraconazol	
Susceptible	≤ 0.125
Dosis dependiente susceptible (S-DD)	0.25-0.5
Resistente	≥ 1

Resultados

Revisión de las cepas para descartar contaminación bacteriana

Después del tiempo de incubación de los inóculos preparados con las diferentes especies de *Candida*, se tomaron 10 μ L de cada uno y se colocaron en un portaobjetos, cubriéndolos con un cubreobjetos. Luego, se observaron bajo el microscopio utilizando el objetivo de 40X. Esto se realizó con la finalidad de descartar contaminación bacteriana y proceder con seguridad a realizar las lecturas espectrofotométricas (Figura 1).



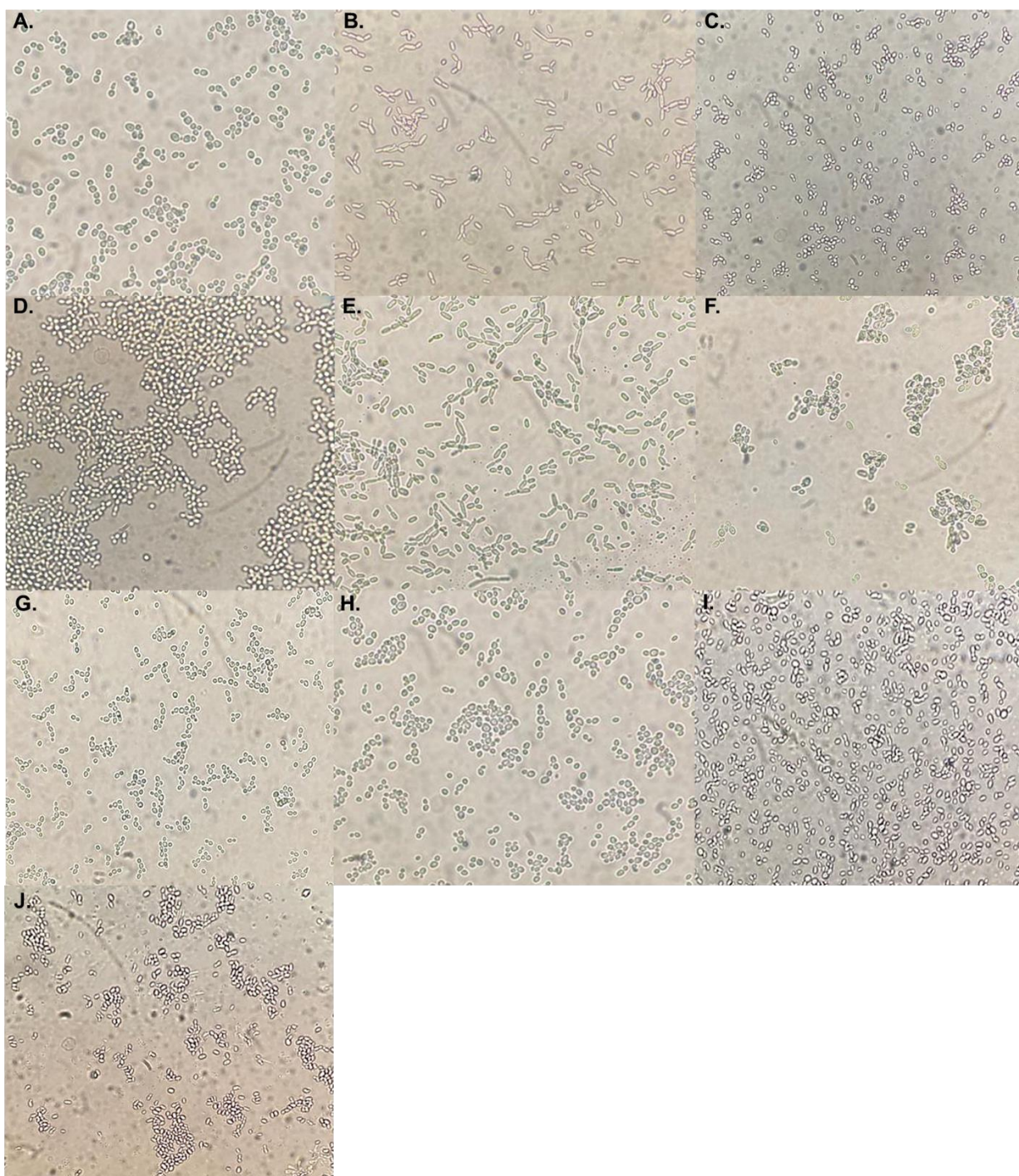


Figura 1. Microscopía óptica de campo claro, aumento 40X. (A) Inóculo de *Candida albicans*. (B) Inóculo de *C. parapsilosis*. (C) Inóculo de *C. glabrata*. (D) Inóculo de *C. dubliniensis*. (E) Inóculo de *C. krusei*. (F) Inóculo de *C. tropicalis*. (G) Inóculo de *C. orthopsilosis*. (H) Inóculo de *C. metapsilosis*. (I) Inóculo de *C. guilliermondii*. (J) Inóculo de *C. auris*.

Como se observa en la *Figura 1*, todas las especies de *Candida* utilizadas en la realización de los inóculos crecieron adecuadamente y sin contaminación bacteriana, puesto que los fondos se observan claros y las formas de las diferentes especies de *Candida*, están bien definidas.

Recopilación y clasificación de los datos obtenidos según su CMI

Se realizó una recopilación de todos los datos proporcionados en las lecturas espectrofotométricas a 530 nm de los dos experimentos de forma independiente y se clasificaron tomando como referencia los valores correspondientes a los puntos de corte del itraconazol según el CLSI (Tabla 3). Debido a la gran cantidad de datos obtenidos en las lecturas espectrofotométricas, se realizó un filtrado de estos y se obtuvieron los valores de las CMI de cada uno de los compuestos evaluados.

Aplicando los criterios de puntos de corte según el CLSI para itraconazol (Tabla 2), se clasificaron los compuestos en las diferentes categorías de sensibilidad según fuera el valor de su CMI: susceptible (S), resistente (R) y susceptible dependiendo de la dosis (S-DD).

Tabla 3. S: Susceptible, R: Resistente, S-DD: Susceptible Dosis Dependiente. Resultados de sensibilidad según la CMI obtenida de cada uno de los compuestos evaluados, tomando como referencia los puntos de corte para el itraconazol según el CLSI.

Especie	Compuesto	CMI (µg/mL)	Resultado primer experimento	CMI (µg/mL)	Resultado segundo experimento
<i>C. albicans</i>	ITX-1	0.460	S-DD	0.307	S-DD
	JOD- 1	0.153	S-DD	0.374	S-DD
	JOD- 2	0.378	S-DD	0.681	S-DD
	JOD -3	0.467	S-DD	0.231	S-DD
	EGL - 7	0.108	S	0.106	S
	AAP - 8	0.470	S-DD	0.576	S-DD
	CON - 11	0.475	S-DD	0.357	S-DD
<i>C. parapsilosis</i>	ITX-1	0.518	S-DD	0.357	S-DD
	JOD- 1	0.170	S-DD	0.463	S-DD
	JOD- 2	0.318	S-DD	0.557	S-DD
	JOD -3	0.536	S-DD	0.209	S-DD
	EGL - 7	0.001	S	0.001	S
	AAP - 8	0.537	S-DD	0.634	S-DD
	CON - 11	0.551	S-DD	0.660	S-DD
<i>C. glabrata</i>	ITX-1	0.048	S	0.026	S
	JOD- 1	0.010	S	0.034	S
	JOD- 2	0.021	S	0.058	S
	JOD -3	0.511	S-DD	0.406	S-DD
	EGL - 7	0.598	S-DD	0.292	S-DD
	AAP - 8	0.361	S-DD	0.229	S-DD
	CON - 11	0.291	S-DD	0.775	S-DD
	ITX-1	0.635	S-DD	0.243	S-DD
	JOD- 1	0.244	S-DD	0.338	S-DD

<i>C. dubliniensis</i>	JOD- 2	0.306	S-DD	0.328	S-DD
	JOD -3	0.010	S	0.059	S
	EGL - 7	0.497	S-DD	0.251	S-DD
	AAP - 8	0.470	S-DD	0.263	S-DD
	CON - 11	0.352	S-DD	0.378	S-DD
<i>C. krusei</i>	ITX-1	0.496	S-DD	0.734	S-DD
	JOD- 1	0.088	S	0.092	S
	JOD- 2	0.598	S-DD	0.481	S-DD
	JOD -3	0.606	S-DD	0.306	S-DD
	EGL - 7	0.460	S-DD	0.492	S-DD
	AAP - 8	0.579	S-DD	0.325	S-DD
	CON - 11	0.451	S-DD	0.591	S-DD
<i>C. tropicalis</i>	ITX-1	0.341	S-DD	0.146	S-DD
	JOD- 1	0.394	S-DD	0.768	S-DD
	JOD- 2	0.548	S-DD	0.460	S-DD
	JOD -3	0.520	S-DD	0.227	S-DD
	EGL - 7	0.440	S-DD	0.680	S-DD
	AAP - 8	0.455	S-DD	0.131	S-DD
	CON - 11	0.435	S-DD	0.368	S-DD
<i>C. orthopsilosis</i>	ITX-1	0.657	S-DD	0.412	S-DD
	JOD- 1	0.409	S-DD	0.503	S-DD
	JOD- 2	0.507	S-DD	0.383	S-DD
	JOD -3	0.501	S-DD	0.423	S-DD
	EGL - 7	0.623	S-DD	0.428	S-DD
	AAP - 8	0.775	S-DD	0.184	S-DD
	CON - 11	0.431	S-DD	0.223	S-DD
<i>C. metapsilosis</i>	ITX-1	0.417	S-DD	0.453	S-DD
	JOD- 1	0.417	S-DD	0.665	S-DD
	JOD- 2	0.495	S-DD	0.744	S-DD
	JOD -3	0.572	S-DD	0.461	S-DD
	EGL - 7	0.542	S-DD	0.769	S-DD
	AAP - 8	0.774	S-DD	0.456	S-DD
	CON - 11	0.648	S-DD	0.375	S-DD
	ITX-1	1.255	R	1.465	R
	JOD- 1	0.276	S-DD	0.341	S-DD
	JOD- 2	1.140	R	1.168	R

<i>C. guilliermondii</i>	JOD -3	1.474	R	0.297	S-DD
	EGL - 7	0.843	S-DD	0.628	S-DD
	AAP - 8	1.427	R	1.273	R
	CON - 11	1.391	R	1.419	R
<i>C. auris</i>	ITX-1	0.426	S-DD	0.705	S-DD
	JOD- 1	0.510	S-DD	0.658	S-DD
	JOD- 2	0.024	S	0.022	S
	JOD -3	0.026	S	0.032	S
	EGL - 7	0.171	S-DD	0.552	S-DD
	AAP - 8	0.528	S-DD	0.228	S-DD
	CON - 11	0.480	S-DD	0.570	S-DD

Los resultados de susceptibilidad a los compuestos analizados en ambos experimentos mostraron reproducibilidad (Tabla 3). Todas las especies se comportaron de manera diferente al interaccionar con ITX-1, JOD-1, JOD-2, JOD-3, EGL-7, AAP-8, CON-11. Para el caso de *C. albicans* esta especie resultó ser susceptible y susceptible dosis dependiente a todos los compuestos, al igual que *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. krusei* y *C. auris* (Tabla 3). Sin embargo, para el caso de *C. tropicalis*, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*, estas especies resultaron ser susceptibles dosis dependiente a todos los compuestos evaluados. Finalmente, la especie que llamó la atención fue *C. guilliermondii*, al presentar resistencia a los compuestos ITX-1, JOD-2, JOD-3, AAP-8 y CON-11, para los demás compuestos esta especie demostró ser susceptible dosis dependiente (Tabla 3).

Discusión

Las infecciones fúngicas causadas por especies de *Candida* se han convertido en una amenaza constante para la salud pública, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, quienes resultan ser los más susceptibles a este tipo de infecciones oportunistas. La investigación en el descubrimiento de fármacos antimicóticos avanza lentamente, y los desafíos planteados por las nuevas especies emergentes de *Candida* han subrayado la necesidad urgente de desarrollar nuevos compuestos y terapias antimicóticas (Gómez-Gaviria et al., 2023). En este estudio, se evaluó la eficacia de varios compuestos con potencial actividad antifúngica en diferentes especies de *Candida*. Nuestros resultados muestran una alta susceptibilidad de las especies de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. orthopsilosis*, *C. metapsilosis* y *C. auris*, a la mayoría de los compuestos analizados, con la excepción de *C. guilliermondii*, la cual resultó ser resistente a la mayoría de estos. Esto sugiere una variabilidad en la respuesta antifúngica entre especies, además, indica el gran potencial que tienen los compuestos analizados en este estudio, para convertirse en una opción terapéutica para tratar la candidiasis.

Teniendo en cuenta los resultados de estudios previos, donde *C. albicans* ha demostrado ser resistente a muchos de los antifúngicos disponibles en el mercado, nuestros hallazgos resultan ser alentadores. Es bien conocido que *C. albicans* ha desarrollado resistencia a antifúngicos como los azoles (fluconazol, itraconazol) y en algunos casos a las equinocandinas (López-Ávila et al., 2016). Esta resistencia puede atribuirse a diversos mecanismos, donde se incluyen la sobreexpresión de bombas de eflujo, mutaciones en las dianas del fármaco, y modificaciones en la vía de biosíntesis del ergosterol. Sin embargo, en este estudio, observamos susceptibilidad y susceptibilidad dependiendo de la dosis de *C. albicans* a los nuevos compuestos con potencial antifúngico, donde se incluyen, EGL-7, ITX-1, JOD-1, JOD-2, JOD-3, AAP-8 y CON-11 (Tabla 3). Estos compuestos demostraron tener la capacidad de inhibir el crecimiento de esta especie, lo que sugiere que podrían ofrecer una alternativa efectiva a los tratamientos actuales. Estos cambios en la susceptibilidad pueden deberse a mecanismos de acción diferentes de los utilizados por los antifúngicos convencionales, lo que podría evitar o superar los mecanismos de resistencia previamente descritos.

C. glabrata es la segunda especie más frecuente de candidemia, lo que la convierte en un importante patógeno oportunista con un gran potencial para desarrollar resistencia a los antimicóticos (Rodríguez et al., 2010). En un estudio realizado

en Chile, se analizó la CMI de varios medicamentos azólicos frente a diferentes aislados de *C. glabrata* y se encontró que solamente una cepa presentaba resistencia a los medicamentos utilizados (Alvarado *et al.*, 2002). Sin embargo, en nuestro estudio, *C. glabrata* se identificó como susceptible a los compuestos ITX-1, JOD-1 y JOD-2, y mostró susceptibilidad dependiente de la dosis para JOD-3, EGL-7, AAP-8 y CON-11. Aunque estos hallazgos difieren de los reportados en estudios anteriores, representan datos favorables en la lucha contra la resistencia a fármacos. Esto es particularmente importante, dado que *C. glabrata*, aunque generalmente es considerada una especie de baja virulencia, puede causar una mayor mortalidad que *C. albicans* (Cárdenas-Parra *et al.*, 2019).

Un estudio multicéntrico realizado en España demostró que aislados de *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis* presentaban susceptibilidad a diferentes agentes antimicóticos probados, incluidos anfotericina B, flucitosina, fluconazol, itraconazol, voriconazol, posaconazol, anidulafungina, caspofungina y micafungin (Canton *et al.*, 2011). Comparando estos hallazgos con los datos de nuestro estudio, se observó que las cepas de *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis* mostraron susceptibilidad dependiente de la dosis frente a todos los compuestos. Esto implica la necesidad de ajustar adecuadamente la dosis para que estos compuestos puedan actuar de manera eficiente e impedir el crecimiento de estas especies. Por otro lado, *C. tropicalis* es una de las especies no-*albicans* más comúnmente aisladas, siendo la tercera más frecuente en cultivos de sangre y orina (Álvarez-Lerma *et al.*, 2003). A nivel mundial, se ha informado que *C. tropicalis* presenta resistencia al fluconazol en estudios de vigilancia poblacional, con tasas de resistencia que varían entre el 0.01 % al 35 %. Además, han sido reportadas tasas similares de resistencia al itraconazol y voriconazol (De Oliveira *et al.*, 2020). En contraste con estos hallazgos, nuestros resultados *in vitro* indicaron que *C. tropicalis* es susceptible dosis dependiente a los compuestos aquí analizados.

C. auris es un patógeno fúngico único debido a varias características, como su capacidad para causar brotes nosocomiales y su rápido desarrollo de resistencia a todas las clases de fármacos antimicóticos (Li *et al.*, 2024). Varios estudios han reportado que los aislados clínicos de *C. auris* presentan una alta tasa de resistencia al fluconazol, la cual oscila en porcentajes del 87 % al 100 %, junto con tasas variables de resistencia a otros fármacos (Halliday *et al.*, 2023). De manera interesante en este estudio no se encontró que *C. auris* fuera resistente a los compuestos aquí probados, lo que los convierte en compuestos con gran potencial para tratar las infecciones causadas por esta especie, teniendo en cuenta que esta especie ha demostrado ser en los últimos años la que genera un mayor grado de mortalidad en pacientes con el sistema inmune comprometido (Trujillo *et al.*, 2020). Aunque *C. krusei* no es una especie que se aísle con tanta frecuencia como otras especies de *Candida*, las infecciones causadas por este organismo son de especial relevancia en el ámbito clínico debido a su resistencia intrínseca al fluconazol y a otros fármacos utilizados como terapia estándar, incluyendo la anfotericina B y la flucitosina (Rodríguez *et al.*, 2010; Gómez-Gaviria *et al.*, 2020; Khalifa *et al.*, 2022). Estas características biológicas han dificultado cada vez más el tratamiento de la candidiasis causada por esta especie (Lamping *et al.*, 2009). En nuestro estudio, *C. krusei* mostró una susceptibilidad dependiente de la dosis a los compuestos evaluados, observamos que estos compuestos presentaron una actividad antifúngica significativa contra *C. krusei* cuando se ajustaron las dosis adecuadamente. Estos hallazgos resultan prometedores, ya que sugieren que, con una correcta dosificación, estos compuestos podrían ser efectivos en el tratamiento de infecciones causadas por *C. krusei*, ofreciendo una alternativa frente a las limitaciones de los tratamientos actuales para esta especie.

C. parapsilosis y *C. dubliniensis* son especies de *Candida* que, aunque menos comunes que *C. albicans*, presentan desafíos significativos en el tratamiento debido a su capacidad de desarrollar resistencia a varios antifúngicos de uso común. *C. parapsilosis* ha mostrado susceptibilidad variable a los azoles, con reportes de resistencia emergente al fluconazol y otras clases de antifúngicos, especialmente en aislados nosocomiales (Almirante *et al.*, 2006; Costa-de-Oliveira *et al.*, 2008). Por otro lado, *C. dubliniensis*, aunque inicialmente susceptible a muchos antifúngicos, ha mostrado un potencial creciente de resistencia al fluconazol, similar a *C. albicans*, debido a la adquisición de mutaciones en el gen *ERG11* y la sobreexpresión de bombas de eflujo (Mamtani *et al.*, 2020). Teniendo en cuenta esta información, nuestros resultados indican que tanto *C. parapsilosis* como *C. dubliniensis* fueron susceptibles o susceptibles dependientes de la dosis a los compuestos evaluados en este estudio. Este descubrimiento es interesante, ya que sugiere que los compuestos analizados podrían ofrecer una alternativa eficaz en el tratamiento de infecciones causadas por estas dos especies, especialmente en casos donde la resistencia a los antifúngicos convencionales es una preocupación. La capacidad de ajustar las dosis para maximizar la eficacia también resalta el potencial de estos compuestos como una herramienta valiosa en la lucha contra la resistencia antifúngica.

Finalmente, la especie que llamó más la atención en este estudio fue *C. guilliermondii*. Esta especie es conocida por su capacidad intrínseca para evadir la acción de varios antifúngicos, lo que la convierte en un patógeno complicado de tratar. Estudios previos han reportado que *C. guilliermondii* presenta resistencia a los azoles y a la anfotericina B, con mecanismos de resistencia que incluyen sobreexpresión de bombas de eflujo y mutaciones en las dianas del fármaco (Tavanti *et al.*, 2005; Arendrup *et al.*, 2013). Esta resistencia intrínseca la convierte en una especie difícil de tratar, especialmente en pacientes que se encuentran inmunocomprometidos. En este estudio, observamos que *C. guilliermondii* fue resistente a la mayoría de los compuestos analizados, lo que concuerda con los hallazgos previos sobre la capacidad que tiene para evadir mecanismos de acción de los diferentes fármacos. Esta resistencia subraya la necesidad de

desarrollar nuevos enfoques terapéuticos y compuestos específicos para esta especie. Futuras investigaciones deberían centrar sus esfuerzos en la identificación de los mecanismos específicos de resistencia en *C. guilliermondii* y evaluar la combinación de estos compuestos con otros antifúngicos de uso común para probar posibles sinergias.

Nuestros resultados proporcionan una base prometedora para el desarrollo de nuevos tratamientos antifúngicos. Los compuestos evaluados han mostrado una alta eficacia contra varias especies de *Candida*, con excepción de *C. guilliermondii*. La identificación y el desarrollo de nuevos compuestos antifúngicos, así como la comprensión de los mecanismos de resistencia, son esenciales para abordar la creciente amenaza de la resistencia antifúngica a nivel mundial.

Conclusiones

La resistencia a medicamentos antimicóticos es una constante problemática a nivel mundial, lo que resalta la importancia de continuar con la búsqueda de nuevos compuestos que tengan actividad antifúngica. En el presente estudio se observó una marcada susceptibilidad a los compuestos ITX-1, JOD-1, JOD-2, JOD-3, EGL-7, AAP-8 y CON-11, los cuales al parecer tienen potencial antifúngico, en las diferentes especies de *Candida* estudiadas, excepto *C. guilliermondii*. A diferencia de los fármacos de uso común, el uso de estos compuestos podría resultar en un tratamiento más efectivo para pacientes con candidiasis. Además, el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas frente a las especies no-albicans puede contribuir al control de las infecciones causadas por estas y de esta manera ayudar a reducir la frecuencia de resistencia a los antifúngicos habituales. Sin embargo, sería interesante considerar estudios *in vivo* en modelos murinos para determinar su eficacia y posible toxicidad.

Bibliografía/Referencias

- Almirante, B., Rodríguez, D., Cuenca-Estrella, M., Almela, M., Sanchez, F., Ayats, J., Alonso-Tarres, C., Rodríguez-Tudela, J. L., & Pahissa, A. (2006). Epidemiology, risk factors, and prognosis of *Candida* parapsilosis bloodstream infections: case-control population-based surveillance study of patients in Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *Journal of clinical microbiology*, 44 (5), 1681–1685. <https://doi.org/10.1128/JCM.44.5.1681-1685.2006>
- Álvarez-Lerma, F., Nolla-Salas, J., León, C., Palomar, M., Jordá, R., Carrasco, N., & Bobillo, F. (2003). Candiduria in critically ill patients admitted to intensive care medical units. *Intensive Care Medicine*, 29 (7), 1069-1076. <https://doi.org/10.1007/s00134-003-1807-y>
- Angiolella, L., Rojas, F., Giammarino, A., Bellucci, N., & Giusiano, G. (2024). Identification of Virulence Factors in Isolates of *Candida haemulonii*, *Candida albicans* and *Clavispora lusitanae* with Low Susceptibility and Resistance to Fluconazole and Amphotericin B. *Microorganisms*, 12 (1), 212. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12010212>
- Arendrup, M.C., Dzajic, E., Jensen, R.H., Johansen, H.K., Kjaeldgaard, P., Knudsen, J.D., Kristensen, L., Leitz, C., Lemming, L.E., Nielsen, L., Olesen, B., Rosenvinge, F.S., Roder, B.L., Schonheyder, H.C. (2013). Epidemiological changes with potential implication for antifungal prescription recommendations for fungaemia: data from a nationwide fungaemia surveillance programme. *Clinical microbiology and infection*, 19 (8), 343-53. 10.1111/1469-0691.12212
- Bershow, A. (2023). Capítulo 12: infecciones micóticas. 2e. McGraw Hill Education; 2023. Accessed julio 17, 2024. <https://accessmedicina-mhmedical-com.ugto.idm.oclc.org/content.aspx?bookid=3375§ionid=282014732>
- Brown, G.D., Denning, D.W., Gow, N.A.R., Levitz, S.M., Netea, M.G., White, T.C. (2012). Hidden killers: human fungal infections. *Science translational medicine*, 4 (165). 10.1126/scitranslmed.3004404
- Cantón, E., Pemán, J., Quindós, G., Eraso, E., Miranda-Zapico, I., Álvarez, M., Merino, P., Campos-Herrero, I., Marco, F., de la Pedrosa, E.G.G., Yagüe, G., Guna, R., Rubio, C., Miranda, C., Pazos, C., Velasco, D. (2011). Prospective multicenter study of the epidemiology, molecular identification, and antifungal susceptibility of *Candida* parapsilosis, *Candida orthopsilosis*, and *Candida metapsilosis* isolated from patients with candidemia. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55 (12), 5590-6. 10.1128/AAC.00466-11

- Cárdenas-Parra, L. Y., & Pérez-Cárdenas, J. E. (2019). Mecanismos de resistencia expresados por *Candida glabrata*: una situación para considerar en la terapéutica. *Investigación en enfermería imagen y desarrollo*, 22. <https://doi.org/10.11144/Javeriana.ie22.mrfe>
- Costa-de-Oliveira, S., Pina-Vaz, C., Mendoça, D., & Rodrigues, A.G. (2008). A first Portuguese epidemiological survey of fungaemia in a university hospital. *European journal of clinical Microbiology & infectious diseases*, 27 (5), 365-74. 10.1007/s10096-007-0448-4
- De Oliveira, J. S., Pereira, V. S., De Souza Collares Maia Castelo-Branco, D., De Aguiar Cordeiro, R., Sidrim, J. J. C., Brilhante, R. S. N., & Rocha, M. F. G. (2020). The yeast, the antifungal, and the wardrobe: a journey into antifungal resistance mechanisms of *Candida tropicalis*. *Canadian Journal Of Microbiology*, 66 (6), 377-388. <https://doi.org/10.1139/cjm-2019-0531>
- Gómez-Gaviria, M., & Mora-Montes, H.M. (2020). Current Aspects in the Biology, Pathogeny, and Treatment of *Candida krusei*, a Neglected Fungal Pathogen. *Infection and Drug Resistance*, 13, 1673-1689. 10.2147/IDR.S247944
- Gómez-Gaviria, M., Ramírez-Sotelo, U., & Mora-Montes, H.M. (2023). Non-albicans *Candida* Species: Immune Response, Evasion Mechanisms, and New Plant-Derived Alternative Therapies. *Journal of Fungi*, 9 (1), 11. 10.3390/jof9010011
- Gómez Gaviria, M., Contreras-López, L., Aguilera-Domínguez, J., & Mora-Montes, H.M. (2024). Strategies of Pharmacological Repositioning for the Treatment of Medically Relevant Mycoses. *Infection and Drug Resistance*, 17, 2641-2658. 10.2147/IDR.S466336
- Gómez-Gaviria, M., García-Carnero, L., Baruch-Martínez, D., & Mora-Montes, H.M. (2024). The Emerging Pathogen *Candida metapsilosis*: Biological Aspects, Virulence Factors, Diagnosis, and Treatment. *Infection And Drug Resistance*, 17, 171-185. <https://doi.org/10.2147/idr.s448213>
- Halliday, C., Kim, H.Y., Tay, E., Chen, S.C.A., & Alffenaar, J.W. (2023). Exploring synergy between azole antifungal drugs and statins for *Candida auris*. *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, 78 (12), 2824-2829. 10.1093/jac/dkad303
- Khalifa, H. O., Hubka, V., Watanabe, A., Nagi, M., Miyazaki, Y., Yaguchi, T., & Kamei, K. (2022). Prevalence of Antifungal Resistance, Genetic Basis of Acquired Azole and Echinocandin Resistance, and Genotyping of *Candida krusei* Recovered from an International Collection. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 66 (2). <https://doi.org/10.1128/aac.01856-21>
- Lacasa, E.C., Mazuelos, E.M., & Espinel-Ingroff, A. (2007). Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3, M38-A y M44-A). *Revista Iberoamericana de Micología*, 15. <http://www.guiareviberoammicol.com/Capitulo15.pdf>
- Lobaina-Rodríguez, T., Zhurbenko, R., Rodríguez-Martínez, C., Ruíz, Y.Z., & Rodríguez-Rodríguez, A. (2010). Identificación de especies de *Candida* de importancia clínica con un método auxonograma modificado. *Revista Cubana de Medicina Tropical*, 62 (1), 66-81.
- López-Ávila, K., Dzúl-Rosado, K.R., Lugo-Caballero, C., Arias-León, J.J., & Zavala-Castro, J.E. (2016). Mecanismos de Resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. *Revista Biomédica*, 27 (3). <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v27i3.541>
- Manzano-Gayosso, P., Méndez-Tovar, L. J., Hernández-Hernández, F., & López-Martínez, R. (2008). La resistencia a los antifúngicos: un problema emergente en México. *Gaceta medica de Mexico*, 144(1), 23-26
- Mamtani, S. S., Aljanabi, N. M., Rauniyar, R. P. G., Acharya, A., & Malik, B. H. (2020). *Candida* Endocarditis: A Review of the Pathogenesis, Morphology, Risk Factors, and Management of an Emerging and Serious Condition. *Cureus*, 12 (1). <https://doi.org/10.7759/cureus.669>
- Mellado, E., Cuenca-Estrella, M., & Rodríguez-Tudela, J. L. (2002). Importancia clínica de los mecanismos de resistencia de los hongos filamentosos a los antifúngicos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 20 (10), 523-530. [https://doi.org/10.1016/s0213-005x\(02\)72856-5](https://doi.org/10.1016/s0213-005x(02)72856-5)

- Moran, G. P., Coleman, D. C., & Sullivan, D. J. (2012b). *Candida albicans* versus *Candida dubliniensis*: Why Is *C. albicans* More Pathogenic? *International Journal Of Microbiology*, 2012, 1-7. <https://doi.org/10.1155/2012/205921>
- Lamping, E., Ranchod, A., Nakamura, K., Tyndall, J.D.A., Niimi, K., Holmes, A.R., Niimi, M., & Cannon, R.D. (2009). Abc1p Is a Multidrug Efflux Transporter That Tips the Balance in Favor of Innate Azole Resistance in *Candida krusei*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53 (2), 354-69. 10.1128/AAC.01095-08
- Li, J., Aubry, L., Brandalise, D., Coste, A. T., Sanglard, D., & Lamothe, F. (2024). Upc2-mediated mechanisms of azole resistance in *Candida auris*. *Microbiology Spectrum*, 12 (2). <https://doi.org/10.1128/spectrum.03526-23>
- Alvarado, D., Díaz, M.C., & Silva, V. (2002). Identificación y susceptibilidad antifúngica de *Candida* spp aisladas de micosis invasora. Influencia del porcentaje de inhibición del crecimiento para la determinación de CIM. *Revista Médica de Chile*, 130 (4). <https://doi.org/10.4067/s0034-98872002000400009>
- Pfaller, M. A. (2012). Antifungal drug resistance: mechanisms, epidemiology, and consequences for treatment. *The American journal of medicine*, 125 (1 Suppl), S3-S13. <https://doi.org/10.1016/j.amjmed.2011.11.001>
- Rayan, K.J., & Rayan, S. (2022). Hongos oportunistas: *Candida*, *Aspergillus*, zigomicetos y *Pneumocystis*. *Microbiología Médica, 8e*. McGraw-Hill Education; 2022. Accessed julio 17, 2024. <https://accessmedicina-mhmedical.com.ugto.idm.oclc.org/content.aspx?bookid=3217§ionid=273096568>
- Rodríguez, A. Z., De Bedout Gómez, C., Restrepo, C. A. A., Parra, H. H., Arteaga, M. A., Moreno, A. R., & Marín, A. G. (2010). Sensibilidad a fluconazol y voriconazol de especies de *Candida* aisladas de pacientes provenientes de unidades de cuidados intensivos en Medellín, Colombia (2001–2007). *Revista Iberoamericana de Micología*, 27(3), 125-129. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2010.04.001>
- Sardi, J.C.O., Scorzoni, L., Bernardi, T., Fusco-Almeida, A.M., & Mendes Giannini, M.J.S. (2013). *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology*, 62 (Pt 1), 10-24. 10.1099/jmm.0.045054-0
- Silva, S., Negri, M., Henriques, M., Oliveira, R., Williams, D. W., & Azeredo, J. (2012). *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity, and antifungal resistance. *FEMS microbiology reviews*, 36 (2), 288–305. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00278.x>
- Sosa, Y. I., & Plous, C. V. (2001). Agentes antifúngicos. Generalidades. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 32(3), 173-177
- Tavanti, A., Davidson, A.D., Gow, N.A.R., Maiden, M.C.J., & Odds, F.C. (2005). *Candida orthopsilosis* and *Candida metapsilosis* spp. nov. To Replace *Candida parapsilosis* Groups II and III. *Journal of Clinical Microbiology*, 43 (1), 284-292. 10.1128/JCM.43.1.284-292.2005
- Trujillo, A.B. (2020). Capítulo 6: levaduras. McGraw Hill Education; 2023. Accessed julio 17, 2024. <https://accessmedicina-mhmedical-com.ugto.idm.oclc.org/content.aspx?bookid=2980§ionid=249394829>