Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar, Ciudad de México, México.
ISSN 2707-2207 / ISSN 2707-2215 (en línea), septiembre-octubre 2025,
Volumen 9, Número 5.

https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i5

MÉTODOS FENOTÍPICOS, MOLECULARES Y ESPECTROMÈTRICOS PARA LA EVALUACIÓN DE LA RESISTENCIA EN CANDIDA SPP.: UNA REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

PHENOTYPIC, MOLECULAR, AND SPECTROMETRIC METHODS FOR EVALUATING RESISTANCE IN CANDIDA SPP.: A LITERATURE REVIEW

Leonardo Rafael Figueroa Llivipuma
Universidad Catolica de Cuenca

Jonnathan Gerardo Ortiz Tejedor
Universidad Catolica de Cuenca

DOI: https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v9i5.19843

Métodos fenotípicos, moleculares y espectromètricos para la evaluación de la resistencia en *Candida spp.:* una revisión bibliográfica

Leonardo Rafael Figueroa Llivipuma[1]
leonardo.figueroa.38@est.ucacue.edu.ec
https://orcid.org/0009-0007-8866-976X
Universidad Catolica de Cuenca
Ecuador

Jonnathan Gerardo Ortiz Tejedor
jonnathan.ortiz@ucacue.edu.ec
https://orcid.org/0000-0001-6770-2144
Universidad Catolica de Cuenca
Ecuador

RESUMEN

La resistencia antifúngica en *Candida spp*. representa un desafío clínico importante, especialmente en entornos hospitalarios y pacientes inmunocomprometidos. Esta revisión bibliográfica analiza la utilidad de métodos fenotípicos, moleculares y espectrométricos en la identificación de *Candida spp*. y la detección de resistencia antifúngica, considerando su aplicación en el diagnóstico clínico y la vigilancia epidemiológica. Se realizó una búsqueda en bases de datos como Science Direct, Scopus, Scielo, PubMed y Google Académico, abarcando publicaciones entre 2020 y 2025 en español e inglés. Los términos de búsqueda fueron validados mediante MESH y DeCS. Los estudios seleccionados describen técnicas relevantes en cada enfoque, destacando el método gold estándar y su uso clínico. Aunque los métodos fenotípicos son accesibles y estandarizados, los moleculares y espectrométricos, especialmente PCR y MALDI-TOF MS, ofrecen mayor precisión y rapidez. Estas herramientas se consolidan como las más eficaces para el diagnóstico y vigilancia de la resistencia antifúngica en *Candida spp*. en ambientes hospitalarios.

Palabras clave: *:* Candida spp; métodos fenotípicos; métodos moleculares; métodos espectromètricos; resistencia.

[1] Autor principal.
Correspondencia: leonardo.figueroa.38@est.ucacue.edu.ec

Phenotypic, Molecular, and Spectrometric Methods for Evaluating Resistance in *Candida spp*.: A Literature Review

ABSTRACT

Antifungal resistance in *Candida spp*. is a growing clinical concern, particularly in hospital environments and among immunocompromised patients. This literature review explores the diagnostic value of phenotypic, molecular, and spectrometric methods for the identification of *Candida spp*. and the detection of antifungal resistance. A systematic search was conducted in databases including Science Direct, Scopus, Scielo, PubMed, and Google Scholar, focusing on articles published between 2020 and 2025 in Spanish and English. Search terms were validated using MESH and DeCS descriptors. The selected studies highlight the most commonly used techniques within each methodological approach, emphasizing their clinical applications. While phenotypic methods are widely used due to their accessibility and standardization, molecular and spectrometric techniques—particularly PCR and MALDI-TOF MS—stand out for their speed and accuracy. These advanced methods are currently the most effective strategies for detecting resistance in *Candida spp*., making them essential tools for clinical diagnosis and epidemiological surveillance in hospital settings.

***Keywords*:** *Candida* spp; phenotypic methods; molecular methods; spectrometric methods; resistance.

Artículo recibido 09 agosto 2025

Aceptado para publicación: 13 septiembre 2025

INTRODUCCIÓN

Las infecciones fúngicas han adquirido una relevancia creciente en el ámbito clínico, en particular aquellas provocadas por levaduras del género *Candida*, cuya incidencia y resistencia representan un desafío para los sistemas de salud. Estas levaduras forman parte de la microbiota habitual en seres humanos, localizándose principalmente en piel y mucosas oral, gastrointestinal y genitourinaria. Sin embargo, ante determinados factores predisponentes como el uso prolongado de antimicrobianos de amplio espectro o alteraciones inmunológicas pueden comportarse como patógenos oportunistas, generando infecciones que oscilan desde cuadros superficiales hasta formas sistémicas graves, como candidemia (1).

En entornos hospitalarios, *Candida spp.* se ha identificado como una causa relevante de infecciones nosocomiales. En los Estados Unidos, por ejemplo, se encuentra entre los principales agentes etiológicos de fungemias relacionadas con la atención médica (2). Esta situación ha motivado que organismos internacionales, como la Organización Mundial de la Salud (OMS), prioricen a ciertas especies de *Candida* en sus agendas de investigación, señalando especialmente a *C. albicans*, *C. auris*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* por su capacidad de generar infecciones invasivas y su creciente resistencia a los tratamientos antifúngicos convencionales (3).

Uno de los mayores focos de preocupación lo constituye *Candida auris*, especie emergente que ha sido objeto de múltiples alertas epidemiológicas debido a su resistencia simultánea a varias clases de antifúngicos. Se estima que más del 90 % de sus aislamientos muestran resistencia al fluconazol y alrededor del 30 % presentan multirresistencia a otros compuestos antifúngicos. Su capacidad de persistir en ambientes hospitalarios y transmitirse con facilidad, sumada a la dificultad de su identificación mediante métodos tradicionales, ha favorecido su rápida expansión geográfica y su reconocimiento como un patógeno prioritario. Ante ello, diversas agencias sanitarias recomiendan incorporar técnicas diagnósticas más precisas, como la espectrometría de masas, para mejorar la vigilancia y la contención de brotes (4).

Aunque *C. albicans* ha sido históricamente la especie más frecuente en infecciones humanas, en los últimos años se ha observado un incremento en la proporción de aislamientos correspondientes a especies no albicans. Datos provenientes de estudios multicéntricos revelan que *C. albicans* representa

cerca del 46 % de los casos de candidemia en América del Norte, mientras que otras especies como *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei* también muestran una participación significativa. En regiones como América Latina, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* tienden a ser más prevalentes, lo que subraya la importancia del contexto geográfico en la epidemiología de estas infecciones (5).

Uno de los principales obstáculos en el manejo clínico de las infecciones por *Candida spp.* es la resistencia antifúngica, particularmente a compuestos de uso frecuente como los azoles (e.g., fluconazol), las equinocandinas y, en menor grado, los polienos. En el caso de *C. glabrata*, por ejemplo, se ha reportado una resistencia al fluconazol que puede alcanzar el 30 %, mientras que *C. krusei* presenta resistencia intrínseca a este antifúngico, limitando las opciones terapéuticas disponibles (6).

La identificación precisa de estas especies y la determinación de sus perfiles de sensibilidad antifúngica son fundamentales para establecer terapias efectivas y prevenir la diseminación de cepas resistentes (7). En este contexto, se han desarrollado diversas herramientas diagnósticas que pueden agruparse en tres grandes categorías:

1. **Métodos fenotípicos**, como la microdilución en caldo (recomendada por CLSI y EUCAST), el E-test y la difusión en disco. Aunque son ampliamente utilizados en laboratorios clínicos, presentan limitaciones en cuanto a sensibilidad y requieren entre 24 y 48 horas para obtener resultados confiables (8).
2. **Métodos moleculares**, que permiten detectar genes o mutaciones asociadas a resistencia antes de que estas se manifiesten fenotípicamente. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR), tanto convencional como en tiempo real, ha demostrado ser útil en entornos de investigación y vigilancia (9).
3. **Técnicas espectrométricas**, como la espectrometría de masas mediante MALDI-TOF, han transformado la identificación microbiana gracias a su rapidez y precisión. Actualmente se exploran sus aplicaciones para el reconocimiento de patrones proteómicos o metabólicos vinculados con resistencia, aunque su uso aún requiere mayor validación (9).

Esta revisión tiene como propósito analizar y contrastar la utilidad de los métodos fenotípicos, moleculares y espectrométricas en la identificación de *Candida spp.* y en la detección de resistencia antifúngica, considerando su aplicabilidad en el diagnóstico clínico y la vigilancia epidemiológica.

METODOLOGÍA

Este estudio se desarrollo bajo un enfoque cualitativo, con un tipo de investigacion descriptiva y exploratoria, orientando a analizar la utilidad de metodos fenotipicos, moleculares y espectrometricos en la indetificacion de Candida spp. y la detecion de resistencia antifungica. El diseño fue observacional, transversal y de tipo documental, bansado en la revision bibliografica de literatura cientifica.

La poblacion de estudio estuvo conformada por articulos cientificos publicados entre los años 2020 y 2025, en español e ingles, disponibles en bases de datos digitales como Science Direct, Scopus, Scielo, PubMed y el buscador Google Academico. Se aplico un muestreo intencionado o criterial, seleccionando publicaciones relevantes mediante criterios definidos.

Criterios de Inclusiòn

- Articulos en español e inglès.
- Publicaciones entre 2020 y 2025.
- Disponibilidad de texto completo.
- Relevancia tematica: identificaciòn de Candida spp. y resistencia antifungica mediante metodos fenotipicos, moleculares y espectrometicos.
- Docmuentos cientificos revisados por pares con metodologia clara y validada.

Criterios de exclusiòn

- Publicaciones en otros idiomas
- Articulos fuera del rango temporal establecido.
- Documentos sin acceso completo.
- Estudios que no aborden directamente la resistencia en Candida spp.
- Literatura gris, cartas al editor, opiniones sin respaldo metodologico.

La tecnica de recoleccion de datos fue la revision documental, utilizando descriptores validados por MESH y DECS: “Mètodos fenotipicos”, “Mètodos moleculares”, “Mètodos espectromèticos”, Resistencia a Candida spp.” y sus equivalentes en ingles.

Herramientas de analisis

Para la organización, clasificiaciòn y anàlisis de los artìculos seleccionados se utilizaron herramientas de gestiòn bibliografica como Zotero, que permitierion almacenar, etiquetar y citar adecuadamente las fuentes.

Consideraciones Èticas

Se respetaor los principios eticos de la invtestigacion documental, garantizando la correcta citacion de funetes, la integridad academica y evitando el plagio. No se involucraron sujetos humanos ni animales, po lo que no fue necesario el consentimiento informado ni la probacion por comites de ètica.

Limitaciones

Entre las limitaciones se encuentra la posibilidad de exclusion de literatura no indexada y la heterogenecidad metodologica de los estudios revisados, lo cual puede influir en la comparacion de resultados.

Dessarrollo

Las cepas de *Candida* son patógenos nosocomiales de importancia en pacientes inmunodeprimidos en UCI y postoperatorio. *C. albicans* es la especie más identificada a diferencia de las otras especies las cuales en los últimos tiempos tienen baja relevancia. Los tratamientos para estas infecciones que suelen aplicarse generalmente son eficaces ya sea por terapia antimicótica tópica o sistémica con fármacos como polienos y azoles.

Fármacos como azólicos, fluconazol presentan tolerancia y eficacia satisfactoria sin embargo en estos últimos años han presentado resistencia a estos tipos de fármacos por ende se ha producido un problema importante especialmente para pacientes inmunodeprimidos, ligado a este inconveniente se da la aparición de nuevas cepas especialmente de *C. krusei* y *C. glabrata* (10).

Entre los métodos convencionales para identificar diferentes especies de *Candida* se basan en reacciones de fermentación y morfología, dado que estos métodos presentan limitaciones de fenotipo, la metodología por biología molecular ha tenido gran impacto esto debido al análisis de especies de *Candida* por medio del análisis del polimorfismo (RFLP) del ADN en *Candida spp* (11).

Entre las especies de Candida de mayor relevancia clínica, *Candida albicans* ha sido históricamente la más frecuente, pero en los últimos años se ha observado un aumento significativo de infecciones

causadas por especies no albicans, como *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis* y la emergente *Candida auris*. Esta última es especialmente preocupante debido a su multidrogorresistencia y su capacidad para causar brotes nosocomiales (10).

Métodos fenotípicos frente a susceptibilidad

Microdilución en caldo (CLSI M27-A3/EUCAST)

Este método, evalúa la sensibilidad a antifúngicos con una placa de 96 pocillos. Sin embargo, su alcance limitado y el bajo número de agentes analizados dificultan distinguir variaciones metabólicas entre especies, especialmente en levaduras no fermentadoras que no se consideran en la prueba.

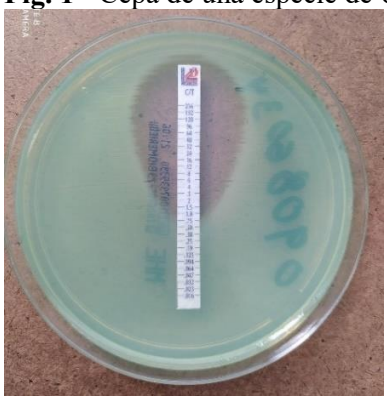
Este protocolo permite evaluar la eficacia de antifúngicos y mejorar la detección de nuevos compuestos, utilizando pequeñas cantidades, variando temperatura, inóculo y medios para optimizar el crecimiento antes de la prueba. Además, los resultados se estandarizan con controles. El método puede identificar rápida y fiablemente diversos compuestos si se emplea un espectro amplio de agentes antifúngicos (12). Este protocolo sirve para seleccionar terapias antifúngicas en clínicas, incluyendo nuevos compuestos. Permite ajustar condiciones previas como concentración del inóculo, temperatura de incubación y sensibilidad a la luz, siempre dentro de los rangos establecidos. Es importante usar un compuesto de referencia similar al fármaco potencial como control.

Método de difusión en agar (E-test)

Conocido como método de difusión en agar, usa una tira con gradiente de concentración de un antifúngico, similar al método de microdilución en caldo, también permite cuantificar las concentraciones inhibitorias mínimas (CIMs) por la lectura de una elipse de inhibición.

Un gradiente exponencial predefinido del fármaco antimicótico es impregnado en una tira de tira de papel, después de inocular una placa de agar, la tira es aplicada sobre la superficie del medio, y el fármaco es liberado produciendo un gradiente continuo de fármaco en el medio agar, tras la incubación se obtiene un elipse formado por la inhibición del crecimiento y el CIM (13).

Fig. 1 - Cepa de una especie de *Candida* susceptible a la acción del antifungico específico.



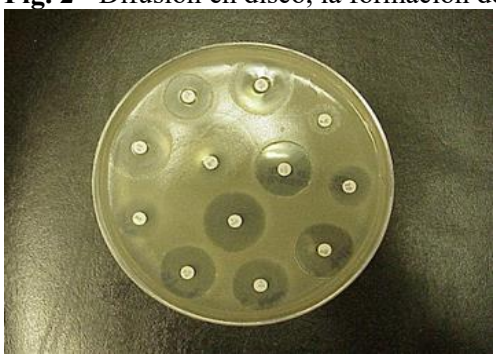
Aunque se trata de un método ágil y sencillo, presenta con frecuencia inconvenientes como el fenómeno conocido como “trailing”, definido por un crecimiento residual de cepas en presencia de azoles. En el caso del método E-test, este fenómeno se evidencia mediante la formación de microcolonias tanto dentro como en los márgenes del área de inhibición, lo que dificulta la correcta interpretación de la concentración mínima inhibitoria (CMI). De modo similar, en la técnica de microdilución en caldo, el trailing se manifiesta como un crecimiento leve o persistente en los pocillos, complicando la determinación precisa del punto final (13).

Prueba de difusión de discos

Conocida como DD (Difusión de discos) o Kirby-Bauer, es un método alternativo, rápido, preciso, simple y económico, el CLSI recomienda usar la prueba DD por su validez ante la terapia antifúngica. Por este procedimiento se aclara la sensibilidad a los antimicóticos por hemocultivos positivos, cuando el hemocultivo resulta positivo, el método de fluconazol DD es más económico que la microdilución en caldo (MBD) (14).

El mecanismo de acción se centra en la difusión radial del antibiótico desde el disco hacia el medio del cultivo, produce un gradiente de concentración decreciente partido del punto de origen.

Fig. 2 - Difusión en disco, la formación de los halos blancos indica susceptibilidad al antibiótico.



El diámetro del halo de inhibición se mide en milímetros y los resultados se interpretan según los puntos de corte establecidos por organismos internacionales como CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) o EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing).

Según el tamaño del halo formado alrededor del disco producido por el microorganismo, se puede clasificar en 3 categorías:

Sensible (S): el microorganismo es inhibido por concentraciones alcanzables del antimicrobiano por ende dicho tratamiento se considera eficaz.

Intermedio (I): produce una eficacia, pero depende de la farmacocinética y un aumento de la dosis.

Resistente (R): No produce inhibición por el antifúngico, en consecuencia, el tratamiento no será efectivo.

En especies *Candida* como *C. albicans* es más susceptible especialmente frente azoles y equinocandinas. Casos como *C. parapsilosis* tiene una mayor sensibilidad a los azoles y no a las equinocandinas debido a la enzima diana, hay casos especiales como es el caso de *C. tropicalis* debido a la buena respuesta a los azoles pero sus cepas resisten al fluconazol. Las especies *C. glabrata* y *C. krusei* son más preocupantes debido a la resistencia alta frente a los azoles y en ciertas ocasiones a las equinocandinas (14).

Métodos moleculares

PCR convencional y en tiempo real

La resistencia antifúngica en la especie *Candida*, es un desafío creciente en la práctica clínica, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en su versión convencional como en tiempo real (qPCR), es una herramienta para el diagnóstico de especies de *Candida* e incluso genes asociados a mecanismo de resistencia antifúngica. Este método diagnóstico es relevante en especies como *C. albicans, C. glabrata,*

C. krusei y C. auris, indicando una elevada resistencia a diferentes clases de antifúngicos, incluyendo azoles, equinocandinas y anfotericina B. (15).

La PCR convencional permite la amplificación de genes específicos relacionados con la resistencia a antifúngicos, facilitando su detección mediante técnicas de electroforesis. Entre los principales genes que codifican las bombas de eflujo se destacan CDR1, CDR2 y MDR1, los cuales contribuyen al mecanismo de resistencia a los azoles mediante la expulsión del fármaco. Adicionalmente, las mutaciones en el gen ERG11, que codifica la enzima lanosterol 14 α-desmetilasa, disminuyen la eficacia del gene al reducir la afinidad por la diana farmacológica, particularmente en el caso de los azoles, principal clase de antifúngicos.

Si bien la PCR convencional identifica dichas mutaciones, requiere análisis complementarios, como la secuenciación, para detectar variantes asociadas a la resistencia. En contraste, la qPCR ha transformado la detección de resistencia antifúngica en los últimos años, permitiendo una cuantificación rápida y precisa de la expresión génica. Mediante el uso de sondas TaqMan o intercaladores SYBR Green, la técnica no solo detecta la presencia de genes resistentes, sino que también evalúa el nivel de expresión que refleja la resistencia mediada por bombas de eflujo. Por ejemplo, en *Candida albicans* y *C. glabrata*, el incremento en la expresión de CDR1 y CDR2 señala resistencia a fluconazol, mientras que la mutación en el gen FKS1 se asocia a resistencia frente a equinocandinas. Esta capacidad de identificar mutaciones de forma eficiente con PCR mejora la selectividad terapéutica y reduce los tiempos de espera respecto a los métodos convencionales.

Desde la perspectiva clínica, la resistencia en especies de *Candida* resulta fundamental en casos de infecciones invasivas y en entornos hospitalarios. Un caso relevante es *C. auris*, que muestra alta resistencia tanto a azoles como a equinocandinas. La qPCR posibilita la identificación temprana de mutaciones en el gen FKS1, lo que permite ajustar oportunamente el tratamiento hacia opciones más eficaces, tales como anfotericina B liposomal. Asimismo, otra ventaja de la qPCR es la detección de coinfecciones por múltiples especies de *Candida*. Ante una infección mixta, donde coexisten especies sensibles y resistentes, se presentan desafíos adicionales en la terapia antifúngica.

PCR-RFLP y MIST

Conocido como polimorfismo de longitud de restricción (RFLP), es una herramienta útil para la

identificación de especies de *Candida* y la variabilidad genética entre cepas, este método se basa en la amplificación de PCR y digestión del ADN con enzimas de restricción, cortan el ADN en sitios específicos generando fragmentos de diferentes tamaños conocidos como perfil de fragmentos de restricción los cuales varían según la especie de *Candida* y la mutación presente.

En la especie *Candida*, es muy usada la región ITS, esta secuencia de ADN ribosómico varía entre especies, además de identificar especies, detecta mutaciones asociadas con resistencia en los genes ERG11 (azoles) y FKS1/FKS2 (equinocandinas), al identificar la presencia de mutaciones, el gen altera los sitios de corte de las enzimas de restricción generando un patrón distinto e indica la resistencia de la cepa (16).

MIST

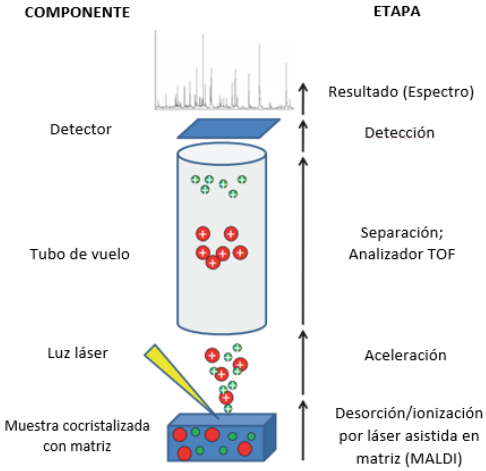
La técnica de identificación molecular mediante repeticiones cortas en Tàndem (MIST), se basa en la amplificación y análisis de repeticiones en tándem del ADN de *Candida*, estas repeticiones son las secuencias de nucleótidos las cuales se repiten varias veces en el genoma, pero varían entre cepas de la misma especie. Se distinguen entre cepas diferentes de *Candida*, algunas de ellas no se llegan a distinguir por otros métodos, en sí este método tiene como principal finalidad tipificar cepas y rastrear su propagación

Métodos espectromètricos

Espectrometría de masas MALDI-TOF

Es una técnica rápida y precisa usada principalmente en muestras clínicas para identificar microorganismos como *Candida*. Consta en medir las masas de los fragmentos de proteínas los cuales se generan al ionizar el ADN o proteínas de una muestra realizada por láser. Estos fragmentos se separan según el tiempo de vuelo generando un perfil específico para cada microorganismo el cual es comparado con la base de datos para su identificación (17).

Fig. 3 - Equipo de espectrometría de masas MALDI-TOF



Este método es caracterizado por su rapidez y precisión, es casi inmediata por ende se usa para infecciones invasivas por *Candida*, un punto a tomar en cuenta, el método en sí no detecta resistencia antifúngica directa por ende se combina con otras pruebas moleculares para identificar la cepa resistente. En esta revisión se analizaron diversos estudios recientes abordando los métodos empleados para la evaluación de resistencia antifúngica en *Candida spp*, se agrupo en 3 grandes categorías: fenotípicos, moleculares y espectromètricos. Los hallazgos se exponen a continuación de manera comparativa y temática.

- **Hallazgos en métodos fenotípicos**

Se evidenció que los métodos fenotípicos continúan siendo al primeria línea de evaluación de resistencia en la mayoría de laboratorios clínicos por su bajo costo y accesibilidad, siendo Microdilución en caldo según el estándar (CLSI y EUCAST), difusión en disco y difusión en agar los más utilizados teniendo como objetivo determinar la concentración mínima inhibitoria (CIMs) para identificar una resistencia o sensibilidad del microorganismo al antifúngico (18).

Cabe mencionar que se presentaron ciertas diferencias, como el método que usa cada laboratorio ya sean las normas CLSI o EUCAST las cuales usan diferentes medios, concentraciones, condiciones de incubación e incluso el antifúngico escogido y la aplicación la cual puede ser disco, gradiente o dilución (19).

Incluso la aparición del “fenómeno de trailing” en la resistencia a los azoles dificultando la lectura e interpretación de los resultados, sin embargo pese a sus limitaciones sigue siendo utilizado en los centros hospitalarios debido a su bajo y disponibilidad (20).

- **Hallazgos en métodos moleculares**

Estos métodos de identificación molecular por ADN, han ganado popularidad, al ser técnicas específicas, precisas y sensibles para la identificación y diferenciación de las especies de *Candida spp*, aunque presenta ciertas desventajas como: personal capacitado, equipos automatizados e incluso el alto costo sin embargo los resultados se obtienen de manera más rápida y precisa.

Las técnicas más usadas PCR convencional y PCR en tiempo real (qPCR), analizan la expresión de los genes MDR1, CDR1, ERG11 y ERG3. Tras varias revisiones se encontré que por estas técnicas podemos observar la sobreexpresión de estos genes en los diversos grupos de sensibilidad obteniendo como resultado resistencias a las especies de *Candida*, además de la detección temprana de mutaciones puntales las cuales se relacionan a la resistencia a los azoles y equinocandinas (21).

Otro método más usado es la tipifición de secuencias de locus múltiples (MLST) que en si amplifica los fragmentos de ADN hasta 400-500 pb tiene como limitación el análisis de solo siete secuencias en genes de loci de 300-400 pb (22).

- **Hallazgos métodos espectromètricos**

La espectrometría de masas por la técnica MALDI-TOF MS, ha mostrado avances significativos en la identificación rápida y precisa de especies *Candida* e incluso especies más resistentes como *C. auris*. Cabe mencionar que la relación con resistencia por aplicación directa aún está en desarrollo aunque varios estudios reportan detección indirecta de los perfiles de resistencia por análisis de patrones espectrales, especialmente tras estar expuestos a los antifúngicos (23).

A continuación, presentamos una tabla comparativa de los métodos para evaluar la resistencia microbiana frente a parámetros como: sensibilidad, especificidad entre otros:

Tabla 1 - Tabla comparativa entre los métodos fenotípicos, moleculares y espectromètricos referente a diferentes parámetros.

Parámetro	Métodos fenotípicos	Métodos moleculares	Métodos espectromètricos
Sensibilidad	Moderada o alta (depende método y cepa)	Alta (detecta genes específicos de resistencia)	Moderada (requiere alta concentración de proteína)
Especificidad	Moderada (posibles falsos positivos/negativos)	Alta (precisa para detectar genes y resistencia)	Alta (siempre que este combinada con técnica complementarias
Costo	Bajo o moderado	Alto (reactivos, equipos y personal capacitado)	Alto (equipos sofisticados y mantenimiento caro)
Tiempo de obtención	24 a 72 horas	4 – 8 horas en PCR 1 - 2dias (secuenciación)	Rápido, 15 minuto a 1 hora
Aplicabilidad clínica	Alta (método estándar aprobado)	Alta (conocimiento de mecanismo genético)	Moderada – alta (identifica resistencia).

Aspectos relevantes de los diferentes métodos de diagnóstico e investigación

La resistencia antifúngica en especies del género Candida representa una creciente amenaza en el ámbito clínico, enfatizando pacientes hospitalizados, inmunocomprometidos o expuestos a tratamientos antifúngicos prolongados. Especies como *Candida glabrata, C. krusei, C. albicans* y *C. auris* han indicado patrones preocupantes de resistencia a múltiples clases de antifúngicos, como los azoles, las equinocandinas y la anfotericina B. Por ende, este fenómeno incremento la necesidad de utilizar métodos de diagnóstico más sensibles, rápidos y específicos para evaluar la precisión y sensibilidad antifúngica y guiar a decisiones terapéuticas más efectivas (24).

Comparación de métodos diagnósticos

Los métodos fenotípicos son los más empleados en laboratorios clínicos debido a su bajo costo, fácil implementación y por respaldo normativo de parte de los organismos internacionales como CLSI y EUCAST. Siendo las técnicas Gold estándar de microdilución en caldo, E-test y difusión en disco la cual permite determinar la (CMI), una medida fundamental para evaluar la eficacia de un antígeno frente

a una cepa determinada (25).

No obstante, presenta ciertas limitaciones como el tiempo 24 a 48 horas para obtener el resultado e incluso verse afectados por condiciones externas (pH, temperatura, medio de cultivo) y susceptibilidad a fenómenos como el trailing, crecimiento residual en presencia de antifúngicos como azoles que dificultan la interpretación (26).

Por otro lado, los métodos moleculares, la PCR convencional o la reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (qPCR), la amplificación isotérmica (LAMP) y secuenciación de genes de resistencia, han sido efectivas como herramientas para la detección rápida y directa de especies de Candida e incluso la presencia de mutaciones en mecanismos de resistencia (27).

Genes que comúnmente son estudiados son EGR11 asociado a la resistencia de azoles y KS1/FKS2 asociados a resistencia de equinocandinas. Este método se caracteriza por su alta especificidad y sensibilidad e incluso su rapidez diagnostica, permitiendo así detectare resistencia incluso en muestras con baja carga fúngica, a pesar de ello, presenta ciertas limitaciones: necesita equipo especializado, personal capacitado, infraestructura adecuada, cabe mencionar que en muchos de los casos, los resultados deben ser tratados con precaución, debido a la presencia de mutaciones que no se traducen como un fenómeno clínicamente resistente (28)

Los métodos espectrométricas, espectrometría de masas por MALDI-TOF MS (Matrix-Assited Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry), se consolido como una tecnología innovadora en el diagnostico microbiológico. En si su uso principal es la identificación rápida de especies microbianas en perfiles proteicos, se exploró una aplicación para la detección indirecta de resistencia antifúngica por análisis de degradación de antifúngicos o expresión diferencial de proteínas que se asocien a resistencia. Entre las ventajas que presenta incluyen rapidez, alta reproductibilidad y posibilidad de automatización, sin embargo, su aplicación para evaluar la sensibilidad antifúngica esta en proceso de estandarización y validación clínica. Cabe mencionar que su alto costo limita su disponibilidad en muchos laboratorios clínicos, sobre todo en países en vías de desarrollo (29).

Dentro de la práctica clínica, según el método diagnostico depende de los recursos disponibles, urgencia de caso, infraestructura del laboratorio y el perfil del paciente. Los métodos fenotípicos son más accesibles y estandarizados a diferencia de los moleculares y espectromètricos, estos presentan ventajas

importantes en rapidez y especificidad siendo un punto clave en infecciones invasivas por *Candida* o brotes hospitalarios, como *C. auris* (30).

CONCLUSIONES

Una de las conclusiones más destacadas al comparar estos enfoques (rapidez, tiempo, especificidad, entre otros) es que no existe un único método superior. Se resalta la importancia de aplicar estrategias diagnósticas combinadas, integrando las fortalezas de cada técnica. Por ejemplo, la combinación de métodos fenotípicos para la confirmación de susceptibilidad con técnicas moleculares que permitan identificar genes de resistencia específicos mejora la precisión diagnóstica. Además, cuando se dispone de tecnología MALDI-TOF, esta puede utilizarse no solo para la identificación, sino también para realizar análisis de sensibilidad en el desarrollo de protocolos clínicamente válidos.

Además del beneficio clínico, pueden contribuir a la vigilancia epidemiológica, al permitir una detección precoz de cepas multirresistentes, identificación de brotes nosocomiales y monitoreo a nivel local e internacional en resistencia antifúngica, con esta información obtenida se promoverá programas para controlar la vigilancia y el uso de antifúngicos.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Soliman SSM. Editorial: Candida spp.-transmission, pathogenesis, host-pathogen interaction, prevention, and treatment. Front Microbiol. 2 de agosto de 2023;14:1258837.

2. CDC. Candidiasis. 2024 [citado 12 de abril de 2025]. Data and Statistics on Candidemia. Disponible en: https://www.cdc.gov/candidiasis/data-research/facts-stats/index.html

3. La OMS publica su primera lista de hongos que constituyen una amenaza para la salud [Internet]. [citado 30 de marzo de 2025]. Disponible en: https://www.who.int/es/news/item/25-10-2022-who-releases-first-ever-list-of-health-threatening-fungi

4. Nota recordatoria sobre medidas de prevención y control de infecciones en pacientes con colonización e infección por Candida auris en los establecimientos de salud. Recomendaciones provisionales - OPS/OMS | Organización Panamericana de la Salud [Internet]. 2021 [citado 12 de abril de 2025]. Disponible en: https://www.paho.org/es/documentos/nota-recordatoria-sobre-medidas-prevencion-control-infecciones-pacientes-con

5. Veinte años del programa de vigilancia antifúngica SENTRY: Resultados para especies de Candida de 1997 a 2016 | Foro Abierto de Enfermedades Infecciosas | Oxford Academic [Internet]. [citado 12 de abril de 2025]. Disponible en: https://academic.oup.com/ofid/article/6/Supplement_1/S79/5381621

6. Pfaller MA, Diekema DJ. Epidemiology of Invasive Candidiasis: a Persistent Public Health Problem. Clin Microbiol Rev. enero de 2007;20(1):133-63.

7. Tu J, Liu N, Huang Y, Yang W, Sheng C. Pequeñas moléculas para combatir infecciones por la superbacteria *Candida auris* resistente a múltiples fármacos. Acta Pharmaceutica Sinica B. 1 de noviembre de 2022;12(11):4056-74.

8. Identificación fenotípica y molecular de aislamientos clínicos y ambientales de Fusarium spp [Internet]. [citado 12 de abril de 2025]. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0016-38132024000500009

9. Magalhães J, Correia MJ, Silva RM, Esteves AC, Alves A, Duarte AS. Molecular Techniques and Target Selection for the Identification of Candida spp. in Oral Samples. Applied Sciences. enero de 2022;12(18):9204.

10. Jenkins E, Lyman M, Jackson B, Lockhart S, Wolford H, Reddy S, et al. Fluconazole resistance in non-albicans Candida species in the United States, 2012-2021. Antimicrob Steward Healthc Epidemiol. 29 de septiembre de 2023;3(Suppl 2):s29-30.

11. Cirak MY, Kalkanci A, Kustimur S. Use of molecular methods in identification of Candida Species and evaluation of fluconazole resistance. Mem Inst Oswaldo Cruz. diciembre de 2003;98:1027-32.

12. Floyd HEE, Kavanagh AM, Lowe GJ, Amado M, Fraser JA, Blaskovich MAT, et al. Standardisation of high throughput microdilution antifungal susceptibility testing for Candida albicans and Cryptococcus neoformans. Sci Rep. 8 de octubre de 2024;14(1):23407.

13. Araiza J, Sánchez-Pedraza V, Carrillo AK, Fernández-Samar D, Tejeda J, Bonifaz A. Candidiasis oral mixta en pacientes con diabetes de tipo 2: identificación y espectro de sensibilidad. Biomédica. 2023;43:97-108.

14. Tantasuwan S, Chongtrakool P, Waesamaae A, Chayakulkeeree M. Impact of the Disk Diffusion Test on Fluconazole De-Escalation in Patients with Candidemia. Journal of Fungi. noviembre de 2022;8(11):1185.

15. Avni T, Leibovici L, Paul M. PCR Diagnosis of Invasive Candidiasis: Systematic Review and Meta-Analysis. J Clin Microbiol. febrero de 2011;49(2):665-70.

16. Fernández-Cuenca F. Aplicaciones de las técnicas de PCR a la epidemiología molecular de las enfermedades infecciosas. Enferm Infecc Microbiol Clin. 1 de junio de 2004;22(6):355-60.

17. Di Conza JA. Aplicaciones de la espectrometría de masas MALDI-TOF en la microbiología clínica. Revista argentina de microbiología. septiembre de 2022;54(3):1-10.

18. Mora-Lee D, Jaikel-Víquez D, Gross NT, Mora-Lee D, Jaikel-Víquez D, Gross NT. Susceptibilidad in vitro a antifúngicos de especies de Cándida. Acta Médica Costarricense. junio de 2023;65(2):77-84.

19. Lee H, Choi SH, Oh J, Koo J, Lee HJ, Cho S, et al. Comparison of Six Antifungal Susceptibilities of 11 Candida Species Using the VITEK2 AST–YS08 Card and Broth Microdilution Method. Microbiology Spectrum. 6 de abril de 2022;10(2):e01253-21.

20. Calderon Morales R, Vargas Nattez SG. Validación del método comercial ATB FUNGUS 3 frente al método de referencia M27- A2, para determinar la susceptibilidad de Candida albicans a diferentes antifúngicos. Revista CON-CIENCIA. junio de 2021;9(1):46-62.

21. Rojas AE, Cárdenas LY, García MC, Pérez JE. Expression of ERG11, ERG3, MDR1 and CDR1 genes in Candida tropicalis. Biomédica. 31 de agosto de 2023;43(Sp. 1):144-55.

22. Arafa SH, Elbanna K, Osman GEH, Abulreesh HH. Candida diagnostic techniques: a review. JUmm Al-Qura Univ Appll Sci. 1 de septiembre de 2023;9(3):360-77.

23. Lau AF. MALDI-TOF for Fungal Identification. Clin Lab Med. junio de 2021;41(2):267-83.

24. Pristov KE, Ghannoum MA. Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. Clinical Microbiology and Infection. 1 de julio de 2019;25(7):792-8.

25. Estrada-Barraza D, Dávalos Martínez A, Flores-Padilla L, Mendoza-De Elias R, Sánchez-Vargas LO. Comparación entre métodos convencionales, ChromAgar Candida® y el método de la PCR

para la identificación de especies de Candida en aislamientos clínicos. Rev Iberoam Micol. 1 de enero de 2010;28(1):36-42.

26. Andrzejuk P, Tokarska-Rodak M, Dyrda A, Zarębska M. Phenotypic and genotypic characterization of Candida species from the oral cavity of healthy individuals in Lublin province, Poland. Journal of Oral Microbiology. 31 de diciembre de 2025;17(1):2437335.

27. Camp I, Spettel K, Willinger B. Molecular Methods for the Diagnosis of Invasive Candidiasis. J Fungi (Basel). 6 de julio de 2020;6(3):101.

28. Yánez Domínguez DD. Caracterización molecular de las especies de Candida almacenadas en el laboratorio de micología clínica de la Carrera de Bioquímica Clínica, Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica del Ecuador en la ciudad de Quito correspondientes al período de enero 2000 a agosto 2007. 2020 [citado 6 de agosto de 2025]; Disponible en: https://repositorio.puce.edu.ec/handle/123456789/28698

29. Florio W, Baldeschi L, Rizzato C, Tavanti A, Ghelardi E, Lupetti A. Detection of Antibiotic-Resistance by MALDI-TOF Mass Spectrometry: An Expanding Area. Front Cell Infect Microbiol [Internet]. 11 de noviembre de 2020 [citado 6 de agosto de 2025];10. Disponible en: https://www.frontiersin.org/journals/cellular-and-infection-microbiology/articles/10.3389/fcimb.2020.572909/full

30. López C, Giro L, Ramos L, Ramadán S, Bulacio L. Comparación de diferentes métodos para la identificación de especies del género Candida. Revista argentina de microbiología. marzo de 2005;37(1):16-21.