

0.1485



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

Estudio de la sensibilidad "in vitro" a los antifúngicos de aislamientos bucales de *Candida* de pacientes mexicanos adultos y pediátricos con y sin VIH o SIDA

T E S I S
QUE PRESENTA EL ALUMNO
LUIS OCTAVIO SÁNCHEZ VARGAS
PARA OPTAR AL GRADO DE
DOCTOR EN CIENCIAS
ODONTOLÓGICAS

TUTOR: DR. LUIS ALBERTO GAITÁN CEPEDA

MÉXICO, D.F. CIUDAD UNIVERSITARIA 2005

0350045



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

EL TRABAJO QUE SE PRESENTA EN ESTA TESIS HA SIDO REVISADO, ASESORADO Y COORDINADO POR:

Tutor: Dr Luis Alberto Gaitán Cepeda.

Laboratorio de Patología Experimental.
División de Estudios de Posgrado e Investigación. Facultad de Odontología.
Universidad Nacional Autónoma de México.

Tutor externo: Dr. Guillermo Quindós Andrés.
Laboratorio de Microbiología, Inmunología y Parasitología
Laboratorio de Micología Médica.
Facultad de Medicina y Odontología.
Universidad del País Vasco. Bilbao España.

Asesores:

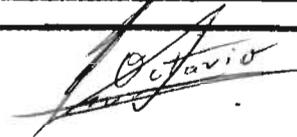
Dra. Francisca Hernández Hernández.
Laboratorio de Micología Médica
Facultad de Medicina.
Universidad Nacional Autónoma de México

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo receptonal.

NOMBRE: Luis Octavio
Sánchez Vargas

FECHA: 17 - Nov - 2005

FIRMA: _____



A mis padres, mi mayor apoyo y mejor ejemplo en la vida...

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE GENERAL	4
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS.....	6
RESUMEN.....	7
INTRODUCCIÓN	8
<i>ASPECTOS HISTÓRICOS</i>	10
<i>BIOLOGÍA DE Candida</i>	14
<i>TAXONOMÍA</i>	14
<i>CRECIMIENTO Y NUTRICIÓN</i>	15
<i>MORFOLOGÍA</i>	15
<i>ESTRUCTURA ANTIGÉNICA</i>	17
<i>ECOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA</i>	17
<i>AMBIENTE BUCAL</i>	18
<i>CRECIMIENTO DE Candida EN SALIVA</i>	20
<i>CONDICIONES ATMOSFÉRICAS</i>	20
<i>FACTORES DE VIRULENCIA</i>	23
<i>ADHERENCIA</i>	23
<i>PROTEINASAS</i>	26
<i>LIPASAS</i>	27
<i>SUSTANCIAS TÓXICAS</i>	27
<i>SINERGISMO DE Candida CON BACTERIAS</i>	27
<i>OTROS FACTORES DE VIRULENCIA</i>	28
<i>CANDIDOSIS BUCAL</i>	28
<i>FACTORES PREDISPONENTES</i>	31
<i>CANDIDOSIS SEUDOMEMBRANOSA</i>	33
<i>CANDIDOSIS ERITEMATOSA</i>	35
<i>GLOSITIS ANTIBIÓTICA</i>	36
<i>CANDIDOSIS ATRÓFICA CRÓNICA</i>	37
<i>CANDIDOSIS HIPERPLÁSICA (LEUCOPLÁSICA)</i>	38
<i>ESTOMATITIS ANGULAR (QUEILITIS ANGULAR)</i>	40
<i>CANDIDOSIS BUCALES EN PACIENTES CON VIH-SIDA</i>	41
<i>DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO</i>	42
<i>ASPECTOS TERAPÉUTICOS</i>	47
<i>AGENTES ANTIFÚNGICOS</i>	48
<i>ESTUDIOS DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD</i>	48

<i>ANTIFÚNGICOS</i>	49
<i>MACRÓLIDOS POLIENOS</i>	49
<i>DERIVADOS AZÓLICOS</i>	50
<i>5-FLUOROCITOSINA</i>	52
<i>INHIBIDORES DE LA SÍNTESIS DE GLUCANOS</i>	53
<i>EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICÓTICOS</i>	53
<i>MÉTODOS DE ESTUDIOS DE ACTIVIDAD IN VITRO A LOS ANTIFÚNGICOS Y EVALUACION DE RESISTENCIA</i>	56
OBJETIVO GENERAL	58
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	58
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	60
JUSTIFICACIÓN	61
HIPÓTESIS	60
MATERIALES Y MÉTODOS	63
<i>TIPO DE ESTUDIO</i>	63
<i>POBLACIÓN DE ESTUDIO</i>	63
<i>METODOLOGÍA</i>	64
<i>ESPECÍMENES CLÍNICOS, MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS E IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS</i>	64
<i>PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A ANTIFÚNGICOS</i>	65
<i>SENSIBILIDAD A FLUCONAZOL Y VORICONAZOL</i>	67
<i>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</i>	68
RESULTADOS	69
<i>DATOS DEMOGRÁFICOS DEL TOTAL DE LA POBLACIÓN</i>	69
<i>DATOS CLÍNICOS</i>	70
<i>TIPOS CLÍNICOS DE CANDIDOSIS</i>	71
<i>DATOS DE COLONIZACIÓN</i>	72
<i>IDENTIFICACION DE LOS AISLAMIENTOS</i>	73
<i>ESPECIES DE CANDIDA SEGÚN TIPO CLÍNICO</i>	74
<i>SENSIBILIDAD A ANTIFÚNGICOS</i>	76
<i>SENSIBILIDAD A ANTIFÚNGICOS POR ESPECIES</i>	77
<i>SENSIBILIDAD A FLUCONAZOL Y VORICONAZOL</i>	84
DISCUSIÓN	87
CONCLUSIONES	101

PUBLICACIONES ORIGINALES	102
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	104
ANEXOS.....	116
AGRADECIMIENTOS.....	125

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

TABLA 1. POSICIÓN TAXONÓMICA DE <i>CANDIDA</i>	14
TABLA 2. FACTORES QUE AFECTAN LA ADHESIÓN DE <i>CANDIDA</i>	25
TABLA 3. CLASIFICACIÓN DE CANDIDOSIS BUCAL.....	30
TABLA 4. CLASIFICACIÓN DE CANDIDOSIS BUCAL. GRUPO II.....	31
TABLA 5. FACTORES PREDISPONENTES DE CANDIDOSIS.....	32
TABLA 6. CLASIFICACIÓN DE LESIONES BUCALES ASOCIADAS AL SIDA.....	42
TABLA 7. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE 312 PERSONAS INCLUIDAS EN ESTE ESTUDIO.....	117
TABLA 8. DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES DEL TOTAL DE LOS AISLAMIENTOS.....	118
TABLA 9. DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES POR GRUPO DE ESTUDIO.....	118
TABLA 10. CARACTERÍSTICAS MICOLÓGICAS DE LOS AISLAMIENTOS CLÍNICOS EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE PACIENTES.....	119
TABLA 11. SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA DE ACUERDO A CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DEL TOTAL DE LOS AISLAMIENTOS.....	120
TABLA 12. SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA DE ACUERDO A CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DEL TOTAL DE LOS AISLAMIENTOS.....	121
TABLA 13. SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA POR GRUPO DE ESTUDIO, AMB, MCZ.....	122
TABLA 14. SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA POR GRUPO DE ESTUDIO, KTZ, ITZ Y FCZ.....	123
TABLA 15. SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO AL FLUCONAZOL Y VORICONAZOL DE ACUERDO A LA PRESENTACIÓN CLÍNICA DE CANDIDOSIS BUCAL.....	124
<u>ANEXO 1. MATRIZ PARA LA OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....</u>	<u>116</u>
<u>FIGURA 1. DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE CANDIDOSIS SEUDOMEMBRANOSA.....</u>	<u>34</u>
<u>FIGURA 2. DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE CANDIDOSIS ERITEMATOSA (PACIENTE INMUNOCOMPETENTE).....</u>	<u>36</u>
<u>FIGURA 3. DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE CANDIDOSIS LEUCOPLÁSICA.....</u>	<u>40</u>
<u>FIGURA 4. CRECIMIENTO DE <i>CANDIDA</i> EN CHROMAGAR <i>CANDIDA</i>.....</u>	<u>44</u>
<u>FIGURA 5. OBSERVACIÓN DE CLAMIDOCONIDIAS AL MICROSCOPIO.....</u>	<u>45</u>

RESUMEN

Se realizó un estudio prospectivo durante tres años para determinar la prevalencia, las características microbiológicas y los patrones de sensibilidad antifúngica de aislamientos de levaduras que colonizaban o infectaban la cavidad bucal de 111 pacientes mexicanos infectados por el virus de la inmunodeficiencia adquirida (VIH) o con el SIDA y 201 pacientes mexicanos no infectados por el VIH; de las personas que se atienden en el Hospital General de México, el Hospital Infantil "Federico Gómez" y de las Clínicas de la Facultad de Odontología (Universidad Nacional Autónoma de México). Estos pacientes fueron distribuidos en cuatro diferentes grupos: adultos VIH+/SIDA, adultos sin VIH (por factores de riesgo), niños VIH+/SIDA y niños sin VIH, incluyendo 51, 109, 60 y 92 pacientes, respectivamente. Las muestras bucales fueron sembradas en agar glucosado de Sabouraud suplementado con cloranfenicol, y fueron incubadas a 37° C. De cada aislamiento fueron identificadas las especies por medio de métodos micológicos estandarizados. La sensibilidad a los antifúngicos fue obtenida por medio del sistema Fungitest (Bio-Rad, Paris, Francia).

Candida albicans fue la especie más frecuentemente aislada. Setenta y uno de 85 aislamientos de los pacientes colonizados fueron por *C. albicans* (83.5%), de estos 48 fueron mujeres (56.5%). Sesenta y dos aislamientos se identificaron como serotipo A, el cual fue el serotipo más prevalente. Sin embargo las especies no- *C. albicans* (*Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* y *Saccharomyces cerevisiae*) fueron aisladas del 16.5% de los pacientes colonizados y del 38.5% de los pacientes con candidosis ó lesiones relacionadas a *Candida*. Se observaron nueve casos de infección o colonización o infección mixta por levaduras.

En el caso de los pacientes infectados por VIH o con SIDA, la colonización por levaduras no estaba asociada con el número de CD4+ o la carga viral; sin embargo el tratamiento anti-retroviral de alta actividad (HAART) reduciría la prevalencia de candidosis oral. La mayoría de los pacientes portadores de levaduras, estaban colonizados o infectados por cepas sensibles a fluconazol. Sin embargo el 10.8% fueron resistentes a uno o más agentes antifúngicos azólicos y el 29% mostraron una sensibilidad intermedia a estos, siendo el itraconazol (10.7% y 28.9%, aislamientos resistentes o de sensibilidad intermedia respectivamente) y ketoconazol (10.2% y 20.8%, aislamientos resistentes o intermedios, respectivamente) los agentes antifúngicos probados menos activos. El miconazol fué más activo (2.7% y 17.6%, aislamientos resistentes o de sensibilidad intermedia, respectivamente) y aún más el fluconazol (FCZ) (3.2% y 11.2%, aislamientos resistentes o de sensibilidad intermedia, respectivamente). Por el contrario, 5-fluorocitosina fue el más activo sobre los aislamientos probados, y anfotericina B fue activa contra el 97.9% de éstos.

Se utilizó el método M44-P del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico (NCCLS de EE.UU. de América) para medir la actividad *in vitro* al FCZ y al voriconazol (VCZ). El FCZ fue activo contra 179 de 187 aislamientos de levaduras (95.7%). Tres aislamientos de *C. albicans* fueron resistentes al FCZ, y dos *C. albicans*, dos *C. tropicalis*, y uno de *C. glabrata* mostraron una sensibilidad intermedia a las 24 h. En las lecturas a las 48 h se observó una disminución de la sensibilidad *in vitro* al FCZ (88.2% de los aislamientos fueron sensibles), 13 *C. albicans*, cinco *C. glabrata* y dos *C. tropicalis* fueron resistentes o sensibles intermedios a este agente antifúngico. Se observó que el 100% de los aislamientos fue sensible al VCZ en ambos tiempos de lectura. Muy pocas diferencias se observaron en la sensibilidad a FCZ y VCZ de los aislamientos probados en este estudio, con respecto a aislamientos de *Candida* en otros estudios recientes.

Palabras clave: Bucal, Candidosis, *Candida*, Levaduras, Sensibilidad antifúngica, VIH/SIDA, México

INTRODUCCIÓN

La cavidad bucal es colonizada por *Candida albicans* y otras especies de levaduras en un 40% a 60% de las personas sanas (Odds, 1988). Cuando se presentan factores predisponentes locales o generales, *Candida* puede causar infecciones bucales agudas o crónicas tales como la candidosis pseudomembranosa (muguet), atrófica (eritematosa), hiperplásica o queilitis angular. Además, otras patologías como la estomatitis por dentadura (estomatitis protésica o candidosis atrófica crónica), leucoplasia o liquen plano han sido asociadas a la presencia o colonización por *Candida* (Lehner, 1967; Samaranayake & Yaacob, 1990). La frecuencia de estas presentaciones clínicas es variable y en muchos pacientes se han reportado combinaciones de dos o más de estos tipos clínicos. (Diz Dios y cols., 1999 & 2001). La candidosis bucal es la complicación bucal con mayor prevalencia en pacientes infectados por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o con VIH+/SIDA (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida) (Vargas y Joly, 2002) y el riesgo es considerado alto en pacientes con linfocitos CD4+ menores a 200 cels/mm³, así como una elevada carga viral en plasma (VIH RNA) (Gottfredson y cols., 1999; Barchiesi y cols., 2002). *C. albicans* es el agente causal más común de la candidosis; sin embargo, otras especies de *Candida* han sido descritas como emergentes (Barchiesi y cols., 2002). La presencia de *Candida* en la cavidad bucal de pacientes VIH+/SIDA es un importante indicador del subsiguiente desarrollo de candidosis bucal. La nistatina tópica o miconazol (MCZ) son antifúngicos usados en el tratamiento inicial de la candidosis bucal, pero muchos pacientes sufren más de un episodio de candidosis bucal y en estos casos el tratamiento se basa en fluconazol

(FCZ) o itraconazol (ITZ) (Pappas y cols., 2004). En muchos países el uso común de FCZ y otros agentes antifúngicos azólicos para el tratamiento de esta infección han sido asociados con la aparición de aislamientos de *C. albicans* resistentes a los antifúngicos azólicos de pacientes VIH+/SIDA (Odds 1999; Pappas y cols., 2004). La introducción de la terapia antirretroviral altamente activa (TARAA) en la práctica clínica ha reducido la prevalencia de muchas infecciones oportunistas, incluyendo la candidosis bucal (Diz Dios, 2001). La reconstitución de las funciones inmunes asociadas a la TARGA es un importante factor que ha influido en la declinación de la candidosis bucal, pero independiente a esto, las altas cuentas celulares de CD4+ y la disminución de la carga viral en plasma (VIH RNA) han sido correlacionados con una disminución de la colonización por *Candida* spp., y con una reducción del riesgo de infecciones bucales sintomáticas (Gottfredson y cols., 1999; Diz Dios, 2001).

Recientemente se ha desarrollado otro antifúngico, Voriconazol (VCZ) que puede ser usado como un agente alternativo para el tratamiento de la candidosis bucal y esofágica recalcitrante (Pappas y cols., 2004), mostrando una excelente actividad contra los aislamientos de *C. albicans* (Espinel-Ingroff y cols., 2001); sin embargo su actividad in vitro contra aislamientos resistentes al FCZ no se ha demostrado realmente contra otras especies de levaduras (Pfaller y cols., 2002).

En México, la mayoría de laboratorios clínicos no han implementado las pruebas correspondientes y por lo tanto se conoce poco acerca de los perfiles de sensibilidad antifúngica de aislamientos clínicos de levaduras. Para determinar la prevalencia de la colonización por *Candida* en pacientes con y sin candidosis bucal, así como los patrones de sensibilidad antifúngica en una población mexicana, hemos realizado un estudio prospectivo en 111 niños y adultos VIH+/SIDA (72 siguiendo una TARGA) y

en 201 personas no infectadas por el VIH. Este estudio representa uno de los primeros reportes de perfiles de sensibilidad antifúngica de levaduras bucales de pacientes VIH+/SIDA en México D.F. Un propósito adicional de este estudio ha sido evaluar in vitro la actividad de VCZ y FCZ contra aislamientos de levaduras bucales provenientes de población mexicana.

C. albicans es un hongo que representa gran importancia en la Medicina y ciencias afines como la Odontología, su simple presencia no implica necesariamente enfermedad ya que forma parte de la biota normal de diversos ecosistemas del organismo; sin embargo, se trata de un hongo oportunista que puede invadir cualquier parte del organismo cuando las condiciones son optimas para su crecimiento. (Lynch, 1994)

ASPECTOS HISTÓRICOS

La candidosis bucal es tan solo uno de los nombres que se le ha asignado a un grupo de desórdenes causados por *Candida*. Desde la antigüedad se han descrito diferentes formas clínicas, como la forma denominada muguet o *muguet*, término aplicado a la candidosis pseudomembranosa aguda. (Samaranayake, 1990)

Aproximadamente en el año 600 a. de C. Hipócrates describió la candidosis en su obra "Epidemias"; mencionó que en niños recién nacidos y pacientes debilitados se presentaban placas blanquecinas en la boca a lo que denominó estomatitis aftosa. (Bonifaz, 1991; Lynch, 1994; Samaranayake, 1990)

Galeno la describió en el año 130 D.C. aproximadamente. Más recientemente, Astruc (1747), pediatra, y Smellie (1752), ginecólogo, describieron las características de las lesiones de muguet. Smellie describió el muguet como una enfermedad que frecuentemente aparece en niños recién nacidos. (McCullough, y cols., 1996;

Samaranayake, 1990). Estos autores coincidieron que la enfermedad puede deberse a desórdenes de las glándulas mucosas combinadas con debilidad y laxitud de los músculos del estómago. Perhaps y Swedish, fisiólogos de Rosen Van Rosenstein en 1771; fueron los primeros en clasificar las enfermedades en diferentes categorías basándose en la severidad y distribución de las lesiones. Describieron las lesiones como una "membrana de tipo lardo*" que aparece primero en labios, encías, lengua, carrillos, paladar, úvula y amígdalas, siendo una forma de enfermedad de cura fácil. Una forma más difícil es cuando desciende a fauces, estómago e intestinos. Esta descripción destaca que el muguet desde la antigüedad se reconoce como una enfermedad potencialmente letal y capaz de extenderse en sitios diferentes de la boca. (Samaranayake, 1990)

La primera investigación consolidada de candidosis bucal fue en 1786, cuando la Real Sociedad de Medicina de Francia suscribió un estudio acerca de *Candida*. Posterior al advenimiento de la microscopía, Langenbeck en 1839 describió un organismo compacto que cultivó de la mucosa bucal de un paciente con *muguet*. El microorganismo aislado por Langenbeck fue clasificado en el género *Sporotrichum* por Gruby. (Lynch, 1994; Samaranayake, 1990)

En 1846, Berg fue el primer investigador que describió adecuadamente la relación del muguet con una levadura, denominada *Oidium albicans* por Charles Robin en 1853. (Samaranayake, 1990)

La clasificación taxonómica de *Candida* ocasiona gran debate por décadas como resultado de diferentes formás morfológicas del organismo. En 1890, Zopf dió el nombre de *Monilia albicans* al hongo causal del *muguet*; este nombre ganó

* Membrana similar a la parte gruesa del tocino. Grasa o unto de los animales.

aceptación y entonces se le dió el nombre de moniliasis a la enfermedad antes llamada *muguet*. (Samaranayake, 1990)

Después de una serie de estudios Castellani y Chalmer (1912-1919) describieron que dentro de la etiología de la enfermedad además de estar involucrado el hongo de *Monilia albicans*, se asociaban otras levaduras que describieron; y ahora se conocen como *Candida guilliermondii*, *Candida krusei* (teleomorfo: *Issatchenkia orientalis*), *Candida tropicalis* y *Candida kefyr* (teleomorfo: *Kluyveromyces marxianus*).

En 1923, Christine Berkhout clasificó la levadura en dos géneros: *Candida* para los agentes causales de infecciones y *Monilia*, que fue asociada con mohos, frutas, plantas y hojas putrefactas. Propuso el nombre de *Candida* del latín “*toga Candida*” que hace referencia al vestido caído blanco de los candidatos para el senado romano. *albicans* proviene del latín “*albicare*” que significa blanquear. Sin embargo, se han usado muchos sinónimos para *C. albicans*: Barnett, Payne y Yarrow en 1983 describieron una lista de 166 sinónimos usados. (Bonifaz, 1991; Lynch, 1994; Samaranayake, 1990)

En 1849, Wilkinson describió la candidosis vaginal, pero, hasta 1875, Haussmann demostró que el hongo causal en la cavidad bucal y en la vagina era el mismo. Zenker tiene el mérito de haber sido el primero en reportar un caso de candidosis sistémica en 1862.

Varias formas de infección por *Candida* comenzaron a describirse a finales del siglo XIX y principios del XX, además de la relación de esta infección con otras enfermedades sistémicas como diabetes mellitus. (Samaranayake, 1990)

Actualmente por lo menos 20 géneros y cerca de 90 especies de levaduras han sido clasificadas y aislados del ser humano. Ocho especies de *Candida* se reconocen como las de mayor patogenicidad: *C. albicans*, *Candida guilliermondii* (teleomorfo: *Pichia guilliermondii*), *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *Candida viswanathii* y *Candida glabrata*. (Bonifaz, 1991; Lynch, 1994; McCullough, y cols., 1996; Sherman, y cols., 2002)

El debate sobre el término candidosis o candidiasis continúa. Odds en su texto clásico referente a *Candida* y candidosis indica que ambos términos son aceptables aunque él sugiere el de candidosis como el preferente. Rippon ha sugerido que la diferencia en la terminología es geopolítica, candidosis es un término distintivo de América y candidiasis es esencialmente de origen europeo. (Bonifaz, 1991; Lynch, 1994; Samaranayake, 1990)

BIOLOGÍA DE *Candida*

Se trata de un hongo dimorfo que forma largas pseudohifas, hifas y blastoconidios (células gemantes subesféricas de 3-8 x 2-7 μm). Asimilan y fermentan azúcares. En medios pobres de nutrientes puede formar numerosas clamidoconidias unicelulares, redondas u ovaladas, con gruesa pared refringente (8-16 μm de diámetro), situadas al final de las hifas o pseudohifas o también laterales sobre blastoconidios ovalados. Crece rápidamente en colonias redondas, de superficies blancas o cremosas, lisas o pastosas y blandas, de bordes precisos, centro ligeramente prominente, con olor característico.

TAXONOMÍA

El género *Candida* es una colección de aproximadamente 150 especies (Scully, y cols., 1994) de las cuales solamente algunas pueden ser patógenos oportunistas, sobresaliendo *C. albicans*. (Bonifaz, 1991; Lynch, 1994; McCullough, y cols., 1996; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994)

TABLA 1. POSICIÓN TAXONÓMICA DE *Candida*. (CALDERONE, 2002)

Phylum:	<i>Ascomycota</i>
Clase:	<i>Hemiascomycetes</i>
Orden:	<i>Saccharomycetales</i>
Familia:	<i>Saccharomycetaceae</i>

CRECIMIENTO Y NUTRICIÓN

Candida crece en medios definidos que básicamente contienen sales, carbono (glucosa), nitrógeno (sales de amonio) y fosfato; en algunos casos además puede requerir de biotina. (Samaranayake, 1990)

Estas levaduras crecen en rangos de temperatura de 20-40 °C y con un rango de pH de 2 a 8. La máxima tasa de crecimiento en medios sintéticos está entre 30 y 40 h, pero en medios suplementados con vitaminas y aminoácidos su tasa de crecimiento puede incrementarse hasta 80 h.

El crecimiento "*in vitro*" de *Candida* en saliva humana ha sido estudiado ampliamente; la mayoría de los autores opina que la saliva proporciona nutrientes suplementarios que favorecen el crecimiento de esta levadura. Se ha visto un aumento en la tasa de crecimiento cuando se adiciona a la saliva carbohidratos suplementarios como es glucosa y sacarosa. (Samaranayake, 1990)

C. albicans fermenta glucosa, galactosa y maltosa con formación de ácidos y dióxido de carbono. El patrón de asimilación y fermentación de azúcares es evaluado en la diferenciación de especies de *Candida*. (Bonifaz, 1991; Samaranayake, 1990; Samaranayake, y cols., 1986)

MORFOLOGÍA

El género *Candida* está compuesto por diversos hongos levaduriformes y en su mayoría dimorfos. (Samaranayake, 1990) *C. albicans*, la principal especie patógena del género, presenta dimorfismo relacionado con las disponibilidades nutricionales. (Bonifaz, 1991; Samaranayake, 1990)

Sus tres formás biológicas principales son:

- Vegetativa o levadura, de forma oval que mide de 1.5 a 5 μm , de reproducción asexual. (Bonifaz, 1991; Lynch, 1994)
- De forma elongada o pseudomicelio, que van de formas filamentosas que sobresalen de las levaduras y miden de 5 a 15 μm . Las pseudohifas son cadenas de células en gemación que no se desprenden y forman una red ramificada parecida a las hifas verdaderas. Las colonias compuestas por pseudohifas tienen un aspecto blando y blanco en contraste con el crecimiento algodonoso del micelio verdadero (Bonifaz, 1991; Samaranayake, 1990)
- Clamidoconidias, estructuras terminales grandes y redondas con un cuerpo celular de 7 a 17 μm de diámetro. Tienen una pared gruesa, se adaptan al mantenimiento de su vitalidad. Su tamaño se debe al almacenamiento de sustancias nutricionales de reserva y su pared los protege contra un medio desfavorable. Dicha pared tiene dos capas: la interna de polisacárido, la externa de proteínas y se puede presentar un gran contenido de lípidos. (Bonifaz, 1991; Samaranayake, 1990)

Cuando se mezcla *C. albicans* con albúmina de huevo o suero humano y se incuba de 20 a 37 °C por 2 a 8 h, las células de levadura presentan la formación de un tubo germinal. Esta es una morfología alargada que se observa en cultivos jóvenes. A este fenómeno se le conoce como de Reynolds-Braude y proporciona un rápido procedimiento de diagnóstico. (Arenas, 1993; Bonifaz, 1991)

El sistema API 20 C AUX que es un sistema de identificación de las levaduras más comunes encontradas en Microbiología clínica sugiere la identificación de hifas

(micelio) o pseudohifas (seudomicelio) lo que constituye un test complementario a la prueba. (BioMériux.)

ESTRUCTURA ANTIGÉNICA

La pared celular de *C. albicans* está compuesta por β -glucanos, manoproteínas y pequeñas cantidades de quitina, además de aproximadamente 30 % de agua; esta pared participa en la adhesión y colonización, presenta además componentes antigénicos y secreta productos como hidrolasas y toxinas. (McCullough, y cols., 1996; Samaranayake, 1990)

ECOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA.

C. albicans está asociada ecológicamente a seres vivos de sangre caliente. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37 °C. Los tractos digestivo y respiratorio, junto con la mucosa genital (vagina), son los reservorios más importantes en los seres humanos y origen de candidosis endógenas. En estas localizaciones se comporta como un saprobio y su aislamiento no implica por sí solo la presencia de infección. *C. albicans* no sobrevive durante mucho tiempo en superficies secas pero su supervivencia es mayor cuando hay humedad y se ha aislado de los cepillos dentales, cremas de manos, cosméticos y ropa. Las especies de *Candida* están ampliamente distribuidas en la naturaleza, *C. albicans* y *C. glabrata* son encontradas comúnmente en humanos y algunos animales, principalmente primates, animales domésticos incluyendo gatos y perros, varios mamíferos, marsupiales y aves. Las especies de *Candida* se encuentran en el hombre de manera ubicua, las infecciones humanas exógenas son poco frecuentes y las candidosis endógenas son muy comunes ya que la levadura forma parte de la biota normal. (Bonifaz, 1991;

McCullough, y cols., 1996; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994; Stenderup, 1990)

AMBIENTE BUCAL

La boca humana está recubierta por una membrana mucosa compuesta de un epitelio superficial y una capa de tejido conectivo laxo. Existen modificaciones en ciertas regiones de acuerdo a la función, como pueden ser diferencias en el grosor y tipo de queratinización. La mucosa bucal es interrumpida por los dientes, cuando estos existen; entre estos y la mucosa encontramos el epitelio de unión que se encarga de mantener la continuidad.

Adicionalmente encontramos otras superficies en la boca debido a la presencia de prótesis y otros retenedores; además de algunas restauraciones dentales que pueden ser de amalgama, algunas resinas (composites) u otras aleaciones. La mucosa bucal en su superficie presenta los ductos de la parótida, glándulas submandibular y sublingual y además a través de toda la superficie presenta numerosos y pequeños ductos de las glándulas salivales menores. (Samaranayake, 1990)

La saliva tiene un efecto humectante y de homogenización, se distribuye en la superficie de la boca siguiendo su curso hasta el esófago, siendo un importante mecanismo de defensa. (Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994; Stenderup, 1990)

Estas interacciones son complejas y los componentes se encuentran en un estado normal y de equilibrio, pero cuando uno o más de estos componentes se ven alterados puede resultar un estado anormal y de enfermedad. Los cambios

ecológicos son debidos a diferentes factores predisponentes que favorecen la enfermedad. (Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994)

Uno de los componentes del ecosistema bucal con el que las levaduras interactúan es la saliva mixta. La saliva consiste en secreciones de las glándulas salivales mayores (parótida, submandibular y sublingual) y de las menores con una variable interna del fluido gingival (crevicular). También contiene células epiteliales exfoliadas, microorganismos bucales y sus productos, además de residuos de comida. La tasa de secreción y composición de la saliva mixta puede ser afectada por un amplio rango de variables incluyendo: género, edad, hora del día, así como posibles diferencias genéticas que alteran la composición proteíca de un individuo a otro. (Samaranayake, 1990)

La saliva mixta tiende a poseer propiedades reductoras ya que la tensión de oxígeno varía en las diferentes partes de la boca; el valor es bajo particularmente en el dorso de la lengua, en las bolsas periodontales y en el vestíbulo maxilar y mandibular.

Una variedad de agentes antimicrobianos están presentes en la saliva, algunos de éstos son producidos únicamente en las glándulas salivales por ejemplo la inmunoglobulina A secretoria y la lactoperoxidasa. Algunos de estos y otros productos antimicrobianos entran en la boca a través del crevículo gingival como es el caso de la inmunoglobulina G, algunos otros como la lisozima y lactoferrina se derivan tanto de las glándulas salivales como del crevículo gingival. (Samaranayake, 1990)

CRECIMIENTO DE CANDIDA EN SALIVA

Hay poca información en la literatura que relaciona el crecimiento de *Candida* con la saliva. Los estudios "in vitro" descritos por Samaranayake y cols. (1986), utilizando en la saliva mixta un suplemento de glucosa con antibióticos añadidos para suprimir el crecimiento bacteriano, reporta una rápida declinación en el pH de 7.5 a 3.2 en un período de 48 h acompañado por un crecimiento de levaduras. El mayor producto final ácido fue identificado como piruvato y acetato. Utilizando un sistema experimental similar, Samaranayake, Hugles y McFarland (1984) encontraron una correlación entre el crecimiento de *Candida*, la producción de compuestos ácidos y la proteólisis.

Los resultados sugieren que *Candida* puede utilizar proteínas salivales, aunque esto requiere confirmación. Los estudios "in vitro" discuten acerca de dar algún indicio en cuanto a cómo ocurren las condiciones precisas *in vivo* para el crecimiento de *Candida*; esto está pobremente definido como ocurre en la boca normal humana. (Samaranayake, 1990)

CONDICIONES ATMOSFÉRICAS

Las especies de *Candida* crecen mejor bajo condiciones aeróbicas, debido a esto los ambientes relativamente anaerobios en algunas partes de la boca tienden a deprimir la proliferación de levaduras.

pH

El rango de pH que induce el crecimiento de *Candida* es entre 3 a 8. Las condiciones óptimas de crecimiento se dan en un rango de pH de 5.1 a 6.9. (Sánchez-Vargas y cols., 2002) Asimismo, *C. albicans* y otras especies pueden crecer a pH menor de 2. Estos resultados sugieren que las condiciones ácidas

pueden favorecer el crecimiento y la colonización por *Candida*, dentro de la boca humana y un número de reportes tienden a apoyar esta conclusión. (Jorge, y cols., 1993; Oksala, 1990; Parvinen and Larmás, 1981; Rossie, y cols., 1987; Samaranayake, 1990; Samaranayake, y cols., 1986; Scully, y cols., 1994) Las razones para explicar esta relación no son claras, pero aparentemente existe una asociación entre el aumento de la adherencia de la levadura a las superficies epiteliales y las condiciones bajas de pH. *C. albicans* adquiere tanto forma de blastospora, como forma de hifas en muestras obtenidas de boca sana y con lesiones; las evidencias muestran que las formás de hifas son más comunes en las lesiones. Se sabe que un amplio rango de factores ambientales, tienden a favorecer la producción de hifas o blastosporas como son el pH, temperatura, diversos nutrientes y la concentración de levaduras. (Sánchez-Vargas, y cols., 2002)

Es posible que la aparición de una o de otra de las diferentes morfologías de *C. albicans* en la boca esté relacionada principalmente con los factores ambientales locales. (Samaranayake, 1990)

De 32 estudios sobre portadores de levaduras de la cavidad bucal de diversas poblaciones se obtuvo que la media de la frecuencia fue de 34. 4 % de todas las levaduras y de este porcentaje el 17 % correspondió a *C. albicans* como la especie dominante seguida de *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*. Otras levaduras presentes fueron *C. lusitaniae*, *Trichosporon* spp. y *Saccharomyces* spp. (Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994; Stenderup, 1990). En saliva de pacientes enfermos se encontraron 400 UFC/ml de *C. albicans*. (Scully, y cols., 1994) Técnicas de impresión han demostrado que la lengua especialmente el dorso es reservorio principal de las levaduras. (McCullough, y cols., 1996)

En pacientes hospitalizados es alta la incidencia de portadores de levaduras, con una media de 54.7 % para todas las especies, de este porcentaje un 38.1 % corresponde a *C. albicans*; (McCullough, y cols., 1996). En un estudio sobre dentaduras de pacientes con estomatitis se encontró *C. glabrata* en un 48 % y *C. albicans* tuvo una frecuencia de 84 % con una asociación de las dos especies en un 41 %. (Samaranayake, 1990; Stenderup, 1990)

Se ha encontrado que la candidosis bucal puede deberse a diferentes agentes etiológicos, el más frecuente es *C. albicans*. Otras especies involucradas pueden ser *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *C. inconspicua* y ocasionalmente otros géneros como *Kluyveromyces* y *Saccharomyces*. Se ha visto que la incidencia de infecciones micóticas en la gente se ha incrementado dramáticamente en las últimas dos décadas incluyendo principalmente a especies diferentes a *C. albicans*. (Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994; Stenderup, 1990) A causa del gran incremento en el número de pacientes inmunodeficientes se han reconocido inevitablemente nuevas especies de *Candida* y especies emergentes de hongos filamentosos causales de infecciones oportunistas. (Coleman, y cols., 1997; Hazen, 1995; Pfaller, 1994)

Este dramático incremento se ha asociado al aumento de pacientes con alguna inmunodeficiencia, particularmente los infectados con VIH y los que reciben algún tratamiento contra cáncer. (Coleman, y cols., 1997)

La candidosis bucal causada por el género *Candida* ha sido la infección oportunista más observada en pacientes con VIH; aproximadamente en un 75 a 90 % se ha reportado que son afectados durante el curso de la enfermedad. Sin embargo,

estas prevalencias se han visto disminuidas notablemente cuando se instaura una terapia antirretroviral de alta actividad. (Bascones, y cols., 2003)

En contraste la candidosis sistémica o diseminada es relativamente rara en pacientes con VIH-SIDA. Aproximadamente uno de cada tres pacientes con SIDA presentan esofagitis candidósica. (Bonifaz, 1991; Coleman, y cols., 1997)

La frecuencia de levaduras en pacientes con VIH-SIDA es mayor para *C. albicans* seguida de *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. krusei*.

En julio de 1995 fué descrita una nueva especie, *C. dubliniensis*, limitándose su incidencia a pacientes con VIH. (Coleman, y cols., 1997; Pinjon, y cols., 1998)

En México, el agente causal más comunmente involucrado en las micosis de todo el cuerpo es *Candida* sp., especialmente *C. albicans*. A causa de esta levadura se ha reportado en pacientes provenientes de ambientes rurales una elevada prevalencia de micosis superficiales (dermatosis); en pacientes geriátricos principalmente la forma pseudomembranosa; en adolescentes la vulvovaginitis, algunos casos de onicomycosis y fungemias intrahospitalarias (principalmente infecciones nosocomiales del tracto urinario y micosis relacionadas con catéteres en pacientes oncológicos). Adicionalmente la prevalencia de portadores bucales de *Candida* es del 17.6 % de 2345 pacientes. (Gaitan, y cols., 1998)

FACTORES DE VIRULENCIA.

ADHERENCIA

Candida albicans es un patógeno oportunista y el mayor factor que contribuye a su virulencia es su habilidad para persistir en las mucosas epiteliales de muchas personas. (Lynch, 1994; McCullough, y cols., 1996; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994)

Se ha observado que existe una relación entre la adherencia de *Candida* y su habilidad para colonizar y causar enfermedad. Un aspecto importante de la patogenicidad de *C. albicans* es su afinidad no específica por resinas acrílicas (dentaduras) y otros plásticos (catéteres). Los mecanismos de adhesión están relacionados con los componentes de la pared celular de *Candida*. (Olsen, 1990; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994)

La adhesión entre las levaduras de *Candida* y el epitelio se da en dos fases; inicialmente existe una adhesión no específica dada por interacciones electrostáticas y posteriormente se da por la relación de la levadura y el epitelio a través de receptores específicos y adhesinas.

Se ha demostrado que la adhesión de *C. albicans* a las células de la mucosa bucal se da a través de la interacción entre cationes divalentes. La adsorción de macromoléculas a las células epiteliales ocurre a través de interacciones electrostáticas que involucran iones calcio y otros grupos iónicos. (Olsen, 1990; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994)

La adhesión depende de las propiedades iniciales de la superficie del hospedero y del sustrato que ahí se encuentre. Existen diferentes factores que afectan la adhesión de las levaduras que se mencionan en la Tabla 2.

TABLA 2. FACTORES QUE AFECTAN LA ADHESIÓN DE *Candida*. (OLSEN, 1990; SAMARANAYAKE, 1990; SCULLY, Y COLS., 1994)

Factores relacionados a:		Factores ambientales que
Las levaduras	Las células del hospedero	afectan la adhesión.
Condiciones de cultivo	Tipo de células	Cationes
Fenotipo	Viabilidad celular	PH
Formación de tubos germinales y/o hifas	Fibronectina	Azúcares
Polímeros extracelulares	Fibrina	Saliva
Superficie fibrilar	Hormonas sexuales	Anticuerpos humbucales y suero
Mananos		Antimicrobianos
Quitina		Bacterias
Hidrofobicidad		Lecitinas
Lípidos celulares		

Las estructuras de la superficie celular de las levaduras promueven la adhesión, que se ve incrementada dependiendo de las condiciones de cultivo. Una actividad optima de adhesión se ha visto en *C. albicans* en un medio desarrollado a 25 °C. La adherencia de *C. albicans* en fase de hifa es mayor que en fase de blastosporas y cuando la levadura está en formación de tubos germinales la adherencia es aún mayor. Lo anterior se debe a que en esta fase existen cambios en los componentes de la superficie celular como la producción ciertas proteínas moleculares que incrementan la adhesión. (McCullough, y cols., 1996; Olsen, 1990; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994)

Los polímeros extracelulares formados por *Candida* facilitan la adhesión, estos contienen glucoproteínas responsables de esta, además la porción de manoproteínas es probablemente la más importante para la adhesión.

Se han encontrado dos tipos de adhesinas en la superficie de *Candida*: la flocular y la fibrilar. Las adhesinas floculares se encargan de mediar la adhesión a la mucosa epitelial bucal, mientras que las adhesinas fibrilares se ha demostrado que incrementan la adhesión a otras células epiteliales. La microbiota indígena de la boca interfiere con la adherencia y colonización por *Candida*. Se ha observado que la biota residente bacteriana puede suprimir la colonización por hongos; sin embargo cuando está se ve alterada y reducida después de una terapia antibiótica, se produce una colonización micótica y posteriormente aparece la enfermedad.

La adherencia de *Candida* depende de la temperatura y probablemente también del pH. El valor de pH en el caso de la vagina es de 5.0 y en el caso de la boca es de 7.0 en promedio; sin embargo, a un pH más bajo como es el caso de superficies acrílicas donde se ha encontrado un pH de 3 a 4, la adherencia de *Candida* se incrementa. (Olsen, 1990; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994) Un factor más que puede inhibir la adherencia de *Candida* a células epiteliales humanas es la inmunoglobulina A. (Scully, y cols., 1994; Segal, y cols., 1992)

PROTEINASAS

La actividad extracelular proteínasa de *Candida* se encuentra asociada con su virulencia. Las enzimas producidas por estas levaduras son de tipo carboxil-proteinasas que son capaces de degradar a la inmunoglobulina A secretoria.

LIPASAS

Las lipasas secretorias de *C. albicans* han llamado la atención como un posible factor de virulencia. Warner describió la actividad lipoproteica en especies de *Candida* como *C. albicans* y *C. tropicalis*. (Samaranayake, 1990)

SUSTANCIAS TÓXICAS

Se han reportado toxinas de tipo glicoproteínas y manoproteínas y se ha aislado una proteína de alto peso molecular cuyo nombre es candidoxina. Otros autores mencionan la producción de nitrosaminas carcinogénicas por *C. albicans* en muestras de leucoplasias. (McCullough, y cols., 1996; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994)

SINERGISMO DE *Candida* CON BACTERIAS

Dentro de los factores de virulencia que presenta *Candida*, se han reportado interacciones entre levadura y bacterias, algunas de las cuales forman parte de la microbiota habitual. *C. albicans* es antagonizada por varias bacterias anaerobias como los estreptococos; sin embargo, se ha encontrado un sinergismo experimental entre *C. albicans* y *Pseudomonas aeruginosa* en ratones quemados. Se ha reportado una frecuente asociación de *Candida* con *Staphylococcus aureus* en casos de estomatitis protésica y queilitis angular y una posible asociación con enterococos en casos de estomatitis protésica. (McCullough, y cols., 1996; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994)

Se ha encontrado que *S. aureus* y *C. albicans* comúnmente causan infecciones sinérgicas, sin embargo los factores que facilitan la co-infección con *S. aureus*, no han sido identificados. (Samaranayake, 1990)

OTROS FACTORES DE VIRULENCIA

Se han descrito muy diversos factores de virulencia, además de los mencionados, algunos de estos incluyen:

- **DIMORFISMO Y FORMACIÓN DE TUBOS GERMINALES**
- **INTERFERENCIA CON LA FAGOCITOSIS**
- **INHIBICIÓN DEL SISTEMA INMUNE**

CANDIDOSIS BUCAL

Desde comienzos del siglo pasado se observó que la candidosis bucal podía presentar distintas manifestaciones clínicas e histopatológicas. Posteriormente se diferenció entre unas formás primarias y otras formás secundarias en las que la candidosis bucal era una manifestación más de la infección candidósica sistémica mucocutánea.

Las candidosis bucales primarias se subdividieron en agudas y crónicas en base a su persistencia, según la clasificación inicial propuesta por Lehner en 1966, que reconocía unas formás agudas: seudomembranosa y atrófica y unas formás crónicas: atrófica (estomatitis protética) e hiperplásica. Posteriormente sobre esta base se realizaron otras clasificaciones que no aportaron datos especiales.

(Samaranayake, 1990)

Posteriormente se propuso una nueva clasificación al considerar que las formás seudomembranosas podían presentar un curso crónico en algunos pacientes. Además, propusieron sustituir el término "atrófica" por el de "eritematosa", ya que estas lesiones, que aparecían rojas, representaban un aumento de la vascularización

que coexistía con un engrosamiento o adelgazamiento del epitelio. (Aguirre, y cols., 1996; Samaranayake, 1990)

Actualmente consideramos las siguientes formás clínicas de candidosis bucal: candidosis seudomembranosa (aguda-crónica), candidosis eritematosa (aguda-crónica), candidosis hiperplásica (leucoplásica), lesiones asociadas (estomatitis protética, queilitis angular, glositis rómbica, queilitis exfoliativa), candidosis mucocutánea (crónica). Cuando dos o más de estas formás clínicas aparecen juntas se le denomina candidosis bucal multifocal. (Aguirre, y cols., 1996; Axell, y cols., 1997; Samaranayake, 1990) *Candida* puede estar también implicada en el eritema gingival lineal, la periodontitis necrótica y la queilitis exfoliativa, procesos descritos en la enfermedad por VIH, aunque su papel exacto aún no está claramente definido (Aguirre, y cols., 1996; Axell, y cols., 1997)

Las circunstancias bajo las que la candidosis bucal se manifiesta como seudomembranosa o eritematosa todavía permanecen sin aclarar, aunque en parte pueden ser explicadas por diferencias en los mecanismos inmunológicos de defensa local. (Aguirre, 2002)

Samanarayake y Yacob presentan la clasificación reflejada en la tablas 3 y 4 que abarcan las diferentes variantes clínicas de candidosis.

TABLA 3. CLASIFICACIÓN DE CANDIDOSIS BUCAL.

Micosis humanas por Candida.

Candidosis sistémica	Candidosis superficial	Candidosis bucal	
	Infección Genital.	Candidosis bucal primaria	Candidosis bucal secundaria
		Grupo I	
	Infección dermica.	Aguda: Seudomembranosa. Eritematosa.	Grupo II Manifestaciones bucales de enfermedades sistémicas. Ver siguiente cuadro.
	Infección ocular.	Crónica: Seudomembranosa. Eritematosa. Hiperplásica.	
	Infección auditiva.	Asociada a lesiones: Estomatitis por dentadura. Queilitis angular. Glositis romboidea media.	

Tomada de Scully C. , El-Kabir M. , Samanarayake Lakshman. Candida and Bucal candidosis: A review. Critical Reviews in Bucal Biology and Medicine, 5 (2): 125-157 (1994)

TABLA 4. CLASIFICACIÓN DE CANDIDOSIS BUCAL. GRUPO II.

Subgrupo	Condición	Etapa de la vida que afecta.
1	Candidosis mucocutánea familiar crónica.	Primera década de la vida.
2	Candidosis mucocutánea difusa crónica.	Antes de los cinco años de edad.
3	Candidosis asociada a una endocrinopatía.	Segunda década de la vida.
4	Candidosis mucocutánea familiar.	En el primer año de vida.
5 ^a	Immunodeficiencia severa combinada.	
5b	Síndrome de Di George's	Infancia.
5c	Enfermedad granulomatosa crónica.	
6	Síndrome de Inmunodeficiencia humana. (SIDA).	Cualquier edad

Tomada de Scully C. , El-Kabir M. , Samanarayake Lakshman. Candida and Bucal candidosis: A review. Critical Reviews in Bucal Biology and Medicine, 5 (2): 125-157

FACTORES PREDISPONENTES

Las especies de *Candida* forman parte de la biota normal bucal. La transición de comensales inocuos en parásitos causantes de enfermedad está asociada con los factores de virulencia del hongo. Sin embargo, los factores del huésped son de importancia en el desarrollo de la enfermedad y siendo las especies de *Candida* o patógenos oportunistas estrictos sólo causan enfermedad cuando las defensas del huésped son inadecuadas. (Bonifaz, 1991; Koneman and G, 1992; McCullough, y cols., 1996; Oksala, 1990; Samaranayake, 1990; Soll, y cols., 1994)

La mayoría de los factores locales y sistémicos que predisponen a candidosis han sido clasificados por Odds en 1988 como: factores naturales, factores dietéticos, factores mecánicos y factores iatrogénicos. En 1990 Oksala analizó los diferentes factores de oportunismo para el desarrollo de la candidosis mostrados en la Tabla 5.

TABLA 5. FACTORES PREDISPONENTES DE CANDIDOSIS

	<ul style="list-style-type: none">• Cambios exógenos epiteliales.
	<ul style="list-style-type: none">• Cambios endógenos epiteliales.
FACTORES LOCALES	<ul style="list-style-type: none">• Cambios en la microbiota bucal• Factores dietéticos•
	<ul style="list-style-type: none">• Edad• Desórdenes endocrinos• Defectos en la actividad de los neutrófilos.
FACTORES SISTÉMICOS	<ul style="list-style-type: none">• Degeneración microvascular en capilares.• Enfermedades inmunológicas• Alteraciones nutricionales•
	<ul style="list-style-type: none">• Terapia antibiótica• Terapia con corticoesteroides.
FACTORES IATROGÉNICOS	<ul style="list-style-type: none">• Tratamientos inmunosupresores• Radioterapia y quimioterapia.•
ENFERMEDADES MALIGNAS	
HÁBITO DE FUMAR	
FACTORES MISCELANEOS	

(Oksala, 1990; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994, Vargas, y cols., 1993; Wikner and Soder, 1994; Duffy, y cols., 1992; Ficarra and Shillitoe, 1992; Gillespie and Marino, 1993; Hauman, y cols., 1993; Navazesh and Lucatorto, 1993; Whelan, y cols., 1990)

CANDIDOSIS SEUDOMEMBRANOSA

La candidosis seudomembranosa también conocida como muguet, es la forma clínica más conocida y se caracteriza por la presencia de grumos o placas blanco-amarillentas de consistencia blanda o gelatinosa, que crecen de manera centrífuga. Al ser raspadas se desprenden fácilmente dejando una zona eritematosa, erosionada o ulcerada, en ocasiones dolorosa, con una mucosa adyacente normal en apariencia. Se inicia en cualquier parte de la cavidad bucal y presenta una inflamación que predomina en la mucosa bucal, predominan en la mucosa yugal, pliegues mucobucuales, orofaringe, márgenes laterales de la lengua. y paladar (Bonifaz, 1991; Challacombe, 1994)

En la mayoría de los casos, la sintomatología es mínima, pero en los casos graves, los pacientes pueden quejarse de dolor, ardor o disfagia. En los pacientes VIH + / SIDA pueden aparecer formas crónicas difíciles de erradicar. (Aguirre, y cols., 1996; Ceballos, y cols., 1996; Ceballos, y cols., 1998a)

Histológicamente las seudomembranas están compuestas por células epiteliales descamadas, fibrina, tejido necrótico, restos de alimentos, células inflamatorias y levaduras con micelio. *C. albicans* no penetra más allá del estrato corneo del epitelio que presenta edema y microabscesos. El tejido conectivo subepitelial presenta un infiltrado inflamatorio mixto con polimorfonucleares, linfocitos y macrófagos (Aguirre, 2002; Reichart, y cols., 2000; Samaranayake, 1990)

Durante la fase de infección se observa seudomicelios y blastosporas con la presencia en ocasiones de otras bacterias. (Bonifaz, 1991; Lynch, 1994; McCullough, y cols., 1996; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994)

Se presenta como una infección aguda que puede ser recurrente por meses e incluso años en pacientes con VIH-SIDA y en otros pacientes inmunodeprimidos. (Bonifaz, 1991; Budtz-Jorgensen, 1990; Eversole, 1994; Lynch, 1994; McCullough, y cols., 1996; Scully, y cols., 1994) Se presenta a cualquier edad y predomina en infantes, ancianos y pacientes debilitados, aunque se han reportado con alguna frecuencia en conjunción con otra serie de condiciones fundamentales como: diabetes mellitus, leucemia e infecciones por VIH.

El diagnóstico se confirma por medio de exámenes microscópicos de la pseudomembrana blanca. Se observan las pseudohifas y las levaduras que se tiñen grampositivas, también pueden captar el colorante de PAS con facilidad. (Bonifaz, 1991; Lynch, 1994; McCullough, y cols., 1996; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994)

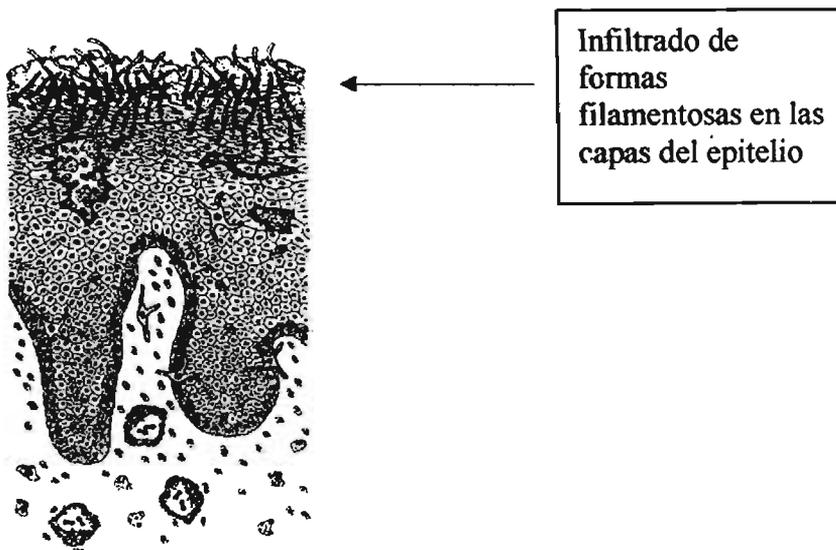


FIGURA 1. DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DE CANDIDOSIS SEUDOMEMBRANOSA

CANDIDOSIS ERITEMATOSA

La candidosis eritematosa, mal llamada atrófica, se presenta clínicamente como un área rojiza de bordes mal definidos en la mucosa bucal sin la presencia de placas blanquecinas. Representa en la actualidad la forma clínica más común tanto en los pacientes inmunocompetentes como en lo inmunodeprimidos.

Su presentación clínica es caracterizada por áreas eritematosas generalizadas en el dorso de la lengua, paladar y mucosa bucal en una imagen doble en espejo. Las lesiones sobre el dorso de la lengua presentan áreas de depapilación. Se observan áreas enrojecidas y puede asociarse estomatitis angular.

También se presenta cuando la forma seudomembranosa persiste durante algún tiempo, se pierde la pseudomembrana y aparece una lesión extensa. Se ha descrito que estas lesiones rojas no son causadas solamente por una reducción en el grosor del epitelio (atrofia), sino además se ha asociado un incremento en la vascularización. (McCullough, y cols., 1996; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994)

En general es una lesión asintomática o que produce un ligero ardor, por lo que en muchas ocasiones es un hallazgo casual. Esta forma es común en los VIH(+), en los pacientes xerostómicos o que están tomando antibióticos de amplio espectro, constituyendo la llamada "lengua antibiótica". Los hallazgos histopatológicos son similares a los encontrados en la seudomembranosa, con una infiltración de polimorfonucleares en el tejido conectivo, una cierta atrofia epitelial y una vascularización hiperémica. No suelen observarse hifas, pero sí blastosporas en la superficie de la mucosa. También se ha descrito una mayor proporción de células de

Langerhans en relación con el tipo pseudomembranoso (Aguirre, 2002; Reichart, y cols., 2000; Samaranayake, 1990; Williams and Lewis, 2000; Williams, y cols., 1997)

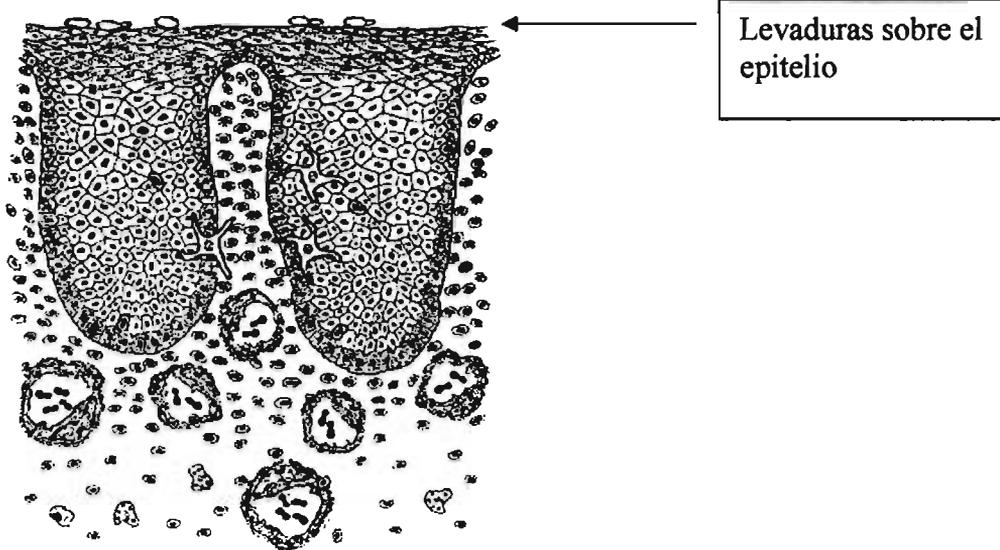


FIGURA 2. DIAGRAMA ESQUEMATICO DE CANDIDOSIS ERITEMATOSA (PACIENTE INMUNOCOMPETENTE)

GLOSITIS ANTIBIÓTICA

Se manifiesta como un eritema mucoso doloroso, sin que se aprecien placas blancas, puede presentar depapilación y desqueratinización en el dorso de la lengua, sensación de ardor.

Esta forma de candidosis se conoce como estomatitis antibiética, glositis antibiética, esto se debe a la relación con tratamientos a base, de antibióticos de amplio espectro. La aplicación de antibióticos reduce la biota bucal normal en una forma importante y estos sitios en el epitelio son colonizados por levaduras, esta proliferación excesiva produce mucosas atróficas e inflamadas, atrofia en las papilas filiformes y se observa una superficie lisa y roja de la lengua. (Budtz-Jorgensen, 1990; Challacombe, 1994; Eversole, 1994; Lynch, 1994; McCullough, y cols., 1996; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994)

CANDIDOSIS ATRÓFICA CRÓNICA

Conocida también como estomatitis candidósica o estomatitis protésica, su localización depende del lugar en que está colocada la prótesis; es más frecuente en el maxilar que en la mandíbula y se presenta más en mujeres que en hombres. (Challacombe, 1994; Lynch, 1994) Se caracteriza por un enrojecimiento persistente del área de soporte de una prótesis removible, preferentemente palatina. Puede presentar un aspecto de enrojecimiento puntiforme (Newton 1), o másivo liso (Newton 2) o másivo con crecimiento hiperplásico (Newton 3). (Santarpia, y cols., 1990) Se trata de un proceso con etiología multifactorial en el que puede estar involucrada la infección por *Candida* (Aguirre, 2002; Aguirre, y cols., 1996)

La mucosa del paladar que está en contacto con la dentadura se inflama de manera difusa; puede presentarse en placas o extenderse afectando toda el área que está cubierta por la prótesis. Se observa una zona roja con petequias y en casos crónicos ocurre hiperplasia papilar en la bóveda palatina así como edema, eritema siendo una lesión asintomática. (Lynch, 1994)

La lesión se puede presentar como una superficie roja brillante, en ocasiones aterciopelada o granular. En casos graves puede observarse vesículas confluentes y erosionadas. Entre los factores que influyen para que se presente esta enfermedad se encuentran:

- Traumatismo crónico de baja intensidad por el desajuste del aparato protésico.
- Una relación oclusal inadecuada.
- No retirar las prótesis por las noches.
- Irritación de la base de la dentadura y subsiguiente colonización micótica.
- Hábitos bucales no funcionales.

- Deficiencias nutricionales.
- Mala higiene bucal y de las prótesis. (Santarpia, y cols., 1990)

La levadura se multiplica e invade los tejidos, en gran parte debido a que la biota microbiana se encuentra reducida por condiciones alteradas bajo la dentadura. El paladar no es la única zona invadida, también la base acrílica es colonizada en forma abundante por *Candida* y otros microorganismos, creando un reservorio para la recurrencia de la infección. Esto se debe a una higiene bucal deficiente, a una irritación mecánica, o podría en menor grado ser una irritación del monómero del acrílico, que no se incorporó debidamente al polímero de la base de la dentadura durante la polimerización de la misma o alergia hacia algún componente del material de elaboración de la prótesis.

Las lesiones papilares nodulares de la mucosa del paladar duro, predominan en pacientes portadores de prótesis total; se puede utilizar una tinción con ácido periódico de Schiff (PAS), para evidenciar al hongo. La forma crónica de candidosis presenta hiperplasia epitelial y esto se debe a que la pseudohifa penetra el epitelio y entra en los queratinocitos para convertirse en parásito intracelular. (Lynch, 1994; Samaranayake, 1990)

CANDIDOSIS HIPERPLÁSICA (LEUCOPLÁSICA)

La candidosis hiperplásica o leucoplásica, se define como una lesión bucal en placas o pequeños nódulos blancos, que no pueden ser desprendidos por raspado y no pueden ser atribuidos a ninguna patología diagnosticable. Se puede localizar en cualquier lugar de la mucosa, pero aparecen más frecuentemente en la mucosa yugal cerca de las áreas retrocomisurales y en la lengua. En los cortes histopatológicos se reconoce la invasión por hifas que penetran en ángulo recto

desde la superficie. Es imprescindible, en estas biopsias, determinar el grado de displasia epitelial que está presente en muchos casos, así como valorar correctamente el infiltrado inflamatorio del corion que suele ser mal diagnosticado como liquenoide.

Existe una estrecha relación entre *Candida*, el aspecto clínico de la leucoplasia y la presencia de displasia (Aguirre, 2002; Aguirre, y cols., 1996; Samaranayake, 1990; Williams, y cols., 1997)

También es conocida como leucoplasia por *Candida*. Es una forma única de candidosis con una reacción hiperplásica. Algunos investigadores indican que representa una lesión premaligna, porque se presenta atipia notable en biopsias de especímenes de estas lesiones. (Bonifaz, 1991; Challacombe, 1994; Lynch, 1994; Samaranayake, 1990)

Algunos estudios muestran que el 10 % de las biopsias tomadas de lesiones calificadas como leucoplasia, tienen la característica de infección crónica por *Candida*. Las zonas más afectadas son lengua, mucosa de carrillos y labios, la lesión es única, puede ulcerarse, y debe ser considerada como premaligna.

Las características clínicas de la enfermedad consisten en lesiones en forma de placas de color blanco persistentes y elevadas que se adhieren con firmeza a la mucosa.

Se encuentran hifas en la parte superficial del epitelio, pero la mayor parte de las hifas crecen formando ángulos rectos en relación, a la superficie. Los pacientes con este tipo de lesiones presentan anticuerpos contra *C. albicans* tanto en suero como en saliva. (Bonifaz, 1991; Challacombe, 1994)

También puede afectar otras superficies como mucosa vaginal, piel, lechos ungueales; en estos casos se asocian otros factores, aspectos inmunológicos y genéticos. Se reconocen una asociación entre el hiperparatiroidismo y la candidosis mucocutánea crónica, y se sabe que algunas de estas alteraciones son heredadas como rasgo autosómico recesivo. (Lynch, 1994; Samaranayake, 1990)

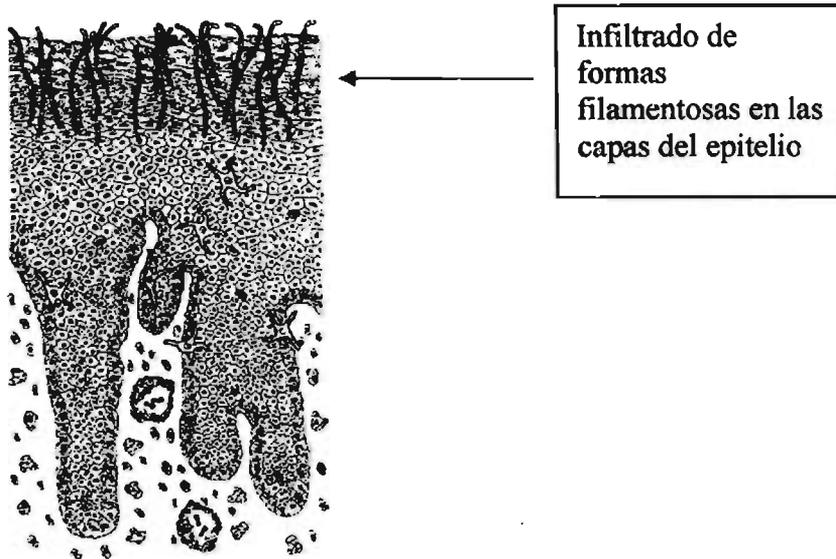


FIGURA 3 . DIAGRAMA ESQUEMATICO DE CANDIDOSIS LEUCOPLASICA.

ESTOMATITIS ANGULAR (QUEILITIS ANGULAR)

La queilitis angular se caracteriza por lesiones con grietas o fisuras y formación de costras, se caracteriza por ardor, eritema en las comisuras labiales (habitualmente bilateral) Comúnmente es asociada a una estomatitis protésica. Esta lesión no siempre está producida por *Candida* por lo que algunos autores la consideran como una lesión asociada. En la patogenia de esta lesión aparecen diferentes factores facilitadores que van desde anomalías relacionadas con el envejecimiento como las arrugas, la disminución de la dimensión vertical, los defectos protésicos, la xerostomía, ciertas medicaciones, deficiencias nutritivas (de vitaminas y/o hierro), etc. En muchos casos se trata de una infección mixta en la que

intervienen además de levaduras bacterias como *S. aureus* o algunos estreptococos. (Aguirre, 2002; Aguirre, y cols., 1996; Samaranayake, 1990)

Ocasionalmente se presenta como el signo inicial de anemia o de deficiencia vitamínica, en especial vitamina B12, por lo cual se resuelve al tratar esto. Otros estudios reportan que un factor predisponente es la deficiencia de hierro, así como se ha asociado a pacientes con VIH-SIDA. Algunos autores consideran que la lesión es resultado de una maceración al ocluir cuando los pacientes presentan disminución de la dimensión vertical. (Budtz-Jorgensen, 1990; Samaranayake, 1990; Scully, y cols., 1994)

CANDIDOSIS BUCALES EN PACIENTES CON VIH-SIDA

Las infecciones bucales están entre las primeras manifestaciones del SIDA. Estas incluyen infecciones micóticas, vírales, bacterianas y por protozoarios, las cuales pueden ser frecuentes, severas, persistentes y recurrentes. (Barone, y cols., 1990; Ficarra and Shillitoe, 1992; Navazesh and Lucatorto, 1993)

Las lesiones en la mucosa bucal por infecciones oportunistas pueden aparecer antes de que se tenga conocimiento de una infección por VIH. La rápida detección de estas condiciones puede dar un diagnóstico temprano de la infección por VIH y subsecuentemente un tratamiento y manejo adecuado del paciente. (Bascones, y cols., 2003; Navazesh and Lucatorto, 1993)

En 1989 Pindborg introdujo la primera clasificación de las lesiones bucales (Ficarra and Shillitoe, 1992; Pindborg, 1989) la cual volvió a ser revisada en 1992 (Pindborg, 1992)

TABLA 6. CLASIFICACIÓN DE LESIONES BUCALES ASOCIADAS AL SIDA. (PINDBORG 1989, 1991).

Pindborg 1989

Revisión de Pindborg 1991

	I Lesiones fuertemente asociadas con el SIDA
	*Candidosis
	Eritematosa
	Hiperplásica
	Seudomembranosa
Infecciones micóticas	II lesiones menos asociadas con el SIDA
	Aquí no corresponde ninguna infección micótica
*candidosis	III Lesiones posiblemente asociadas con el SIDA
Seudomembranosa	Criptococosis
Eritematosa	Geotricosis
Hiperplásica	Histoplasmosis
Queilitis angular	Mucormicosis
Histoplasmosis	Aspergilosis
Criptococosis	
Geotricosis	

Sin embargo cabe mencionar que no son las únicas infecciones micóticas que se presentan en pacientes con SIDA, encontramos también infecciones como paracoccidioidomicosis, esporotricosis, blastomicosis y coccidioidomicosis.

La presencia de candidosis bucal en pacientes seropositivos es un importante indicador clínico del SIDA. (Ceballos, y cols., 1998b)

DIAGNÓSTICO MICROBIOLÓGICO

El diagnóstico clínico de la candidosis bucal es relativamente sencillo, pero debe ser confirmado por la observación microscópica de *Candida* en las muestras bucales y por su aislamiento en cultivo. La observación microscópica se puede hacer en fresco o mediante una tinción, como la de Gram que facilite la visión de las

levaduras y micelios de *Candida*. A su vez, pueden emplearse tinciones histológicas como PAS o metenamina-plata, mucho más complejas.

El cultivo se ha de realizar en placas de agar dextrosa Sabouraud con cloranfenicol o gentamicina (inhiben el crecimiento de las bacterias) que favorecen el crecimiento de los hongos. Hay otros medios de cultivo que permiten hacer una identificación presuntiva rápida (18 a 48 h) del aislamiento según el color que presentan las colonias aisladas en el medio de cultivo y que pueden ser de gran utilidad en aquellos laboratorios microbiológicos con poca experiencia micológica. Entre estos medios de cultivo podemos resaltar el medio Chromagar *Candida* (Chromagar, Francia), donde *C. albicans* crece formando colonias lisas verdes, *C. tropicalis* forma colonias lisas azules y *C. krusei* colonias rosas y rugosas (San-Millán, y cols., 1996). Otros medios interesantes para emplear en el aislamiento e identificación presuntiva de *C. albicans*, son el agar Albicans ID (API-bioMérieux, Francia) (Quindós, y cols., 1996) y el agar Fluoroplate *Candida* (Merck, RFA) (Lipperheide, y cols., 1993); *C. albicans* crece en forma de colonias lisas y azules, en el primero, y las colonias dan una fluorescencia blanca al iluminarlas con luz ultravioleta, en el segundo de estos medios.



FIGURA 4. CRECIMIENTO DE *Candida* EN CHROMAGAR *Candida*

En el laboratorio de Micología, los aislamientos se identifican como *C. albicans* mediante la realización de la prueba de filamentación en suero (incubación del aislamiento en suero de caballo y observación al microscopio de la presencia de tubos germinales, característicos de *C. albicans*), observación de la morfología microscópica y producción de clamidoconidios en agar harina de maíz-Tween 80. Si el aislamiento clínico no produce tubo germinal o clamidoconidios, probablemente será de una especie diferente a *C. albicans* y se deberán realizar pruebas de fermentación y asimilación de hidratos de carbono. (Richardson and Warnock, 1993)

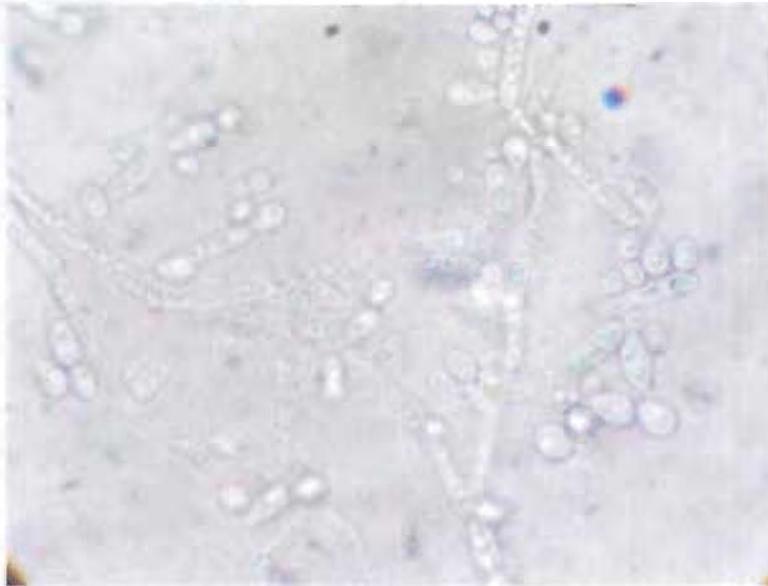


FIGURA 5. OBSERVACIÓN DE CLAMIDOCONIDIAS AL MICROSCOPIO

Estos estudios diagnósticos se ven facilitados con el uso de pruebas comercializadas de asimilación de carbohidratos por *Candida*, como el API ID 32 C (API-bioMérieux), Vitek (API-bioMérieux), Microscan (Baxter, USA) o el API 20 C (API-bioMérieux). Existen también medios que permiten identificar los aislamientos mediante reacciones enzimáticas, como el Fongiscreen 4H (Sanofi-Pasteur), el Rapidec Albicans (bioMérieux) o el Auxacolor (Sanofi-Pasteur), que tienen la ventaja de ser mucho más rápidos que los métodos convencionales bioquímicos pero el inconveniente de ser más caros. (Quindós, y cols., 1993)

La correcta toma de las muestras bucales es muy importante y habitualmente se toman con un hisopo o mediante raspado. Si se utiliza un medio de transporte, aumentan las posibilidades de obtener un aislamiento si en la muestra estaban presentes microorganismos potencialmente patógenos. Si no se dispone de un hisopo con medio de transporte, el hisopo debe ser humedecida con suero fisiológico o agua estériles, para que la muestra no se seque. Entre otros métodos de obtención

de muestras bucales utilizados se incluyen el lavado o enjuague bucal, la toma mediante contacto del medio de cultivo con la mucosa (*inprint*) o la recolecta de saliva.

Sin embargo, tenemos que tener siempre muy en cuenta que el aislamiento de *C. albicans* (más aún si se trata de una especie de *Candida* diferente a *C. albicans*) de muestras bucales si no está acompañado de una clínica compatible con candidosis bucal, no se puede considerar como un dato diagnóstico de infección.

El diagnóstico de cualquiera de las formas de candidosis bucal es fundamentalmente clínico y se basa en el reconocimiento de las lesiones clínicas que debe ser confirmado por la observación microscópica de *Candida* en las muestras bucales y/o por su aislamiento en cultivo. En el caso de *Candida*, si bien su presencia no es patognomónica de infección ya que es un comensal habitual. Para establecer el diagnóstico definitivo de candidosis es necesario observar la invasión tisular por parte de las hifas de *Candida*, observada en las preparaciones histológicas, es el indicador más seguro de infección; aunque pocas veces está indicada la biopsia de la lesión con fines diagnósticos, excepto en los casos de candidosis hiperplásica, en los que es obligado. Por este motivo un resultado negativo de un cultivo tiene más valor para excluir la infección candidósica que los resultados positivos para confirmarla. Podemos decir que en ausencia de clínica compatible la positividad del cultivo no implica que estemos ante una candidosis bucal. La realización de una extensión de material tomado de la lesión y su visión directa al microscopio es un método rápido y fácil de realizar, incluso sin tñirla o haciendolo con PAS o Gram para facilitar la identificación de hongos (Aguirre, 2002; Quindós y cols., 1996).

La candidosis bucal pseudomembranosa se diagnostica generalmente por la observación clínica apoyada en el cultivo. En casos de lesiones eritematosas, puede ser útil realizar una extensión para demostrar la existencia de hifas y levaduras y confirmar el diagnóstico de candidosis bucal eritematosa. En la estomatitis protética, puede ser también de ayuda la obtención de un frotis para observar la presencia de hongos. El crecimiento de *Candida* en la muestra tomada mediante torunda y la existencia de hongos en la extensión van a ayudar al diagnóstico de la queilitis angular asociada.

ASPECTOS TERAPÉUTICOS

El tratamiento de la candidosis bucal se basa en cuatro pilares, de acuerdo a un esquema propuesto por Quindós.:

- Realización de un diagnóstico precoz y certero de la infección.
- Corrección de los factores facilitadores o de las enfermedades subyacentes.
- Determinación del tipo de infección candidiásica.
- Empleo de fármacos antifúngicos apropiados. (Quindós, y cols., 1996)

Es fundamental la corrección de los factores tanto sistémicos (diabetes, neutropenia o ferropenia), como locales (higiene de las prótesis o xerostomía). Un ejemplo de esta circunstancia es que el tratamiento antirretroviral altamente activo para los pacientes VIH + / SIDA ha producido un marcado descenso en la frecuencia y severidad de las candidosis bucales en estos enfermos. (Aguirre, 2002; Bascones, y cols., 2003)

AGENTES ANTIFÚNGICOS

ESTUDIOS DE RESISTENCIA Y SENSIBILIDAD

En las últimas décadas se ha registrado un importante incremento de infecciones fúngicas como resultado de varios factores que incluyen un aumento en el número de pacientes con inmunosupresión severa. El desarrollo de nuevos fármacos para combatir este problema y el desarrollo de mecanismos de resistencia a los antifúngicos también se ha incrementado, en especial en pacientes que requieren largos periodos de tratamiento y que reciben profilaxis antifúngica (lo que permite el crecimiento sólo de las especies de la microbiota).

En la actualidad se utilizan diversas pruebas de sensibilidad a los antifúngicos, los cuales revelan importantes datos en la frecuencia de aislamientos resistentes a los diferentes antifúngicos, particularmente los azoles. Algunas pruebas de sensibilidad a los antifúngicos, las frecuencias de resistencia a diferentes antifúngicos, diferentes mecanismos de resistencia, así como el desarrollo de nuevos antifúngicos son discutidos en esta revisión.

La incidencia de estas infecciones en pacientes trasplantados se encuentra entre el 35 y 40%. Un 30% de pacientes sometidos a quimioterapia por cáncer presentan infecciones fúngicas invasivas. La candidemia se ha incrementado marcadamente en pacientes hospitalizados, adicionalmente las infecciones fúngicas en mucosa y sistémicas son las más comunes en pacientes con SIDA. La candidosis es la infección bucal más frecuente en estos pacientes. (Loeffler and Stevens, 2003; Sanglard, 2002b)

ANTIFÚNGICOS

El número de fármacos antifúngicos disponible es mucho menor que el de antibacterianos. La estructura eucariota común que presentan las células fúngicas y las humanas, ha hecho difícil la obtención de dianas fúngicas bioquímicas o estructurales que puedan ser selectivos de la acción de los antifúngicos. Las drogas antifúngicas más importantes se dividen en 4 diferentes clases: 1) macrólidos polienos; 2) derivados azólicos; 3) inhibidores de la síntesis de DNA y RNA y 4) inhibidores de la enzima β , 1 \leftrightarrow 3 glucano-sintetasa. (Calderone, 2002)

MACRÓLIDOS POLIENOS

La anfotericina B (AmB) altera la estructura de la membrana nivel de la estructura del ergosterol, forma canales por donde se liberan iones potasio, resultando en la alteración del gradiente de concentración de protones; además la AmB causa daños oxidativos a las membranas plasmáticas. En altas concentraciones los polienos inhiben a la quitin-sintetasa, enzima localizada en la membrana plasmática que participa en la síntesis de la pared. En resumen inhiben la síntesis de ergosterol, triglicéridos y fosfolípidos de la membrana del retículo endoplásmico y de la mitocondria por su estrecha unión al citocromo P 450 fúngico que regula muchas de las funciones enzimáticas implicadas en estas biosíntesis, e inhiben también la transición levadura-micelio en *C. albicans*. Los azoles que actúan más específicamente sobre el citocromo P 450 fúngico, como el FCZ y el ITZ, serán menos tóxicos que los que muestran una menor discriminación entre el citocromo fúngico y el humano, como el miconazol y el ketoconazol. (Aguirre, 2002; Calderone,

2002; Greenspan, 1994; Hay, 1996; Loeffler and Stevens, 2003; Ng and Denning, 1993; Quindós, y cols., 1996; Sanglard, 2002b)

La causa de la resistencia a los polienos es una alteración importante en la composición lipídica de la membrana plasmática, principalmente una reducción en el contenido de ergosterol, lo que produce una baja afinidad de los polienos a la membrana plasmática. Otra causa de resistencia puede ser una alteración en el contenido de glucanos β , 1 \leftrightarrow 3 en la pared de los hongos, estos componentes pueden incrementar la estabilidad de la pared, impidiendo el acceso de grandes moléculas como es la AMB a través de la pared a la membrana. (Calderone, 2002; Loeffler and Stevens, 2003; Sanglard and Odds, 2002)

DERIVADOS AZÓLICOS

Se trata de inhibidores de la biosíntesis del ergosterol. El primer azol utilizado sistémicamente fue el clotrimazol que mostró inconsistentes concentraciones en sangre. El miconazol fue el primer azol efectivo contra infecciones sistémicas; sin embargo, su uso intravenoso mostró pocos avances sobre la AmB en lo que se refiere a toxicidad. Ketoconazol fue el primer azol de uso bucal que mostró consistentes niveles en sangre. Ha sido usado satisfactoriamente contra la mayoría de especies de *Candida* con la excepción de *C. glabrata*; además ha mostrado baja hepatotoxicidad y su resistencia ha sido descrita en pacientes VIH +/- SIDA con candidosis mucocutánea, orofaríngea y esofágica.

El ITZ es el primer triazol usado en humanos; de administración bucal e intravenosa, muestra alta actividad in vitro contra *Candida* sp. El FCZ es otro triazol que puede ser administrado bucal e intravenosamente; es usado en la profilaxis y

tratamiento de la candidosis orofaríngea y esofágica de pacientes con SIDA, así como en pacientes neutropénicos. Ha mostrado que reduce significativamente la incidencia de candidosis invasiva en pacientes después de la administración de quimioterapia o un trasplante. (Calderone, 2002; Loeffler and Stevens, 2003)

El Voriconazol está estructuralmente relacionado con el FCZ, muestra un espectro similar al ITZ, activo contra *C. krusei*, *C. guilliermondii* y *C. lusitaniae*. Ha sido recomendado en tratamientos empíricos para sustituir a la AmB en pacientes con neutropenia y fiebre persistente. Fue aprobado con indicaciones limitadas en 2002 en EE.UU. de América. (Calderone, 2002)

El Posaconazol y el Ravuconazol son dos triazoles adicionales que se encuentran en fase experimental; estudios *in vitro* contra hongos dimórficos incluyendo especies de *Candida* sensibles y resistentes al FCZ. (Loeffler and Stevens, 2003)

El ergosterol es el esteroles más abundante de la membrana plasmática de los hongos. Los azoles actúan como inhibidores de la síntesis del ergosterol por bloqueo de la lanosterol desmetilasa, que es una enzima específica en la biosíntesis del ergosterol. El sitio de actividad de bloqueo de la lanosterol desmetilasa contiene un dominio heme, los azoles interactúan con un átomo de nitrógeno específico evitando la desmetilación del lanosterol. Los azoles alteran los lípidos de la membrana plasmática de los hongos y pueden también interactuar con la 3-ketosteroide reductasa; una enzima de la biosíntesis del metilesterol. (Calderone, 2002; Loeffler and Stevens, 2003; Sanglard and Odds, 2002)

Se han propuesto varios mecanismos de resistencia, entre los que cabe destacar la permeabilidad reducida de la membrana celular al antifúngico (más

probable para el FCZ que para un compuesto altamente lipófilo como el ITZ), desvíos posibles en la ruta de síntesis del ergosterol, la producción excesiva de enzimas dependientes del citocromo P450, la mutación de la diana enzimática (14 alfa-desmetilasa) con disminución de la afinidad de unión del antifúngico o la existencia de una bomba de flujo que elimina el antifúngico que entra en la célula fúngica. (Goa and Barradell, 1995) (Calderone, 2002; Loeffler and Stevens, 2003; Marichal, y cols., 1999; Sanglard and Odds, 2002)

5-FLUOROCITOSINA

Es una pirimidina fluorinada, ha sido usada para el tratamiento de infecciones fúngicas desde los años 1960. La 5-FC actúa sobre la enzima citosina-permeasa donde es modificada a 5-fluoracil y convertida a trifosfato-fluororidina, la cual se incorpora al ARN fúngico causando la inhibición de la síntesis de proteínas. También la 5-FC es convertida en fluorodesoxiuridina-monofosfato la cual interfiere con la enzima timidilato-sintetasa, una vez inhibida esta, se produce la inhibición de la síntesis del ADN, tiene una excelente penetración en los tejidos y es principalmente activa contra levaduras incluyendo las especies de *Candida*. Actualmente se administra en combinación con otros antifúngicos. (Calderone, 2002; Loeffler and Stevens, 2003)

La resistencia primaria a la 5-FC no es común. Se conocen dos principales mecanismos de resistencia. El primero es una disminución de actividad de la citosina-permeasa o deaminasa, causándose una disminución de actividad de la enzima. El segundo es una disminución de actividad de la enzima uracil-fosforribosil-transferasa, enzima responsable de la conversión del 5-fluoracil a ácido 5-fluororidílico. Adicionalmente se ha descrito una disminución de la actividad de la

enzima pirofosforilasa-uridín-monofosfato, deficiencias mutacionales de la citosina-permeasa y de la citosina-desaminasa, estos asociados también con resistencia. (Calderone, 2002; Loeffler and Stevens, 2003; Sanglard and Odds, 2002)

INHIBIDORES DE LA SÍNTESIS DE GLUCANOS

La pared celular de los hongos consiste de múltiples capas estructurales de glucanos, quitina, mananos y manoproteínas. Tres antifúngicos principales componen la clase de las equinocandinas; la caspofungina, FK-463 y VER-002, los cuales están siendo estudiados para su uso clínico. Todos inhiben la biosíntesis de β , $1\leftrightarrow 3$ -glucano. Han demostrado potente actividad *in vitro* contra especies de *Candida* y diferentes estudios revelan que esta actividad aplica en aislamientos resistentes a los triazoles. Se trata de inhibidores de la enzima β -glucano-sintetasa, con efectos secundarios en otros constituyentes los cuales causan incremento en el contenido de quitina de la pared y reducción del ergosterol contenido en la membrana plasmática. Se ha observado *in vitro* que las equinocandinas son más potentes contra *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. tropicales* y menos potentes contra *C. parapsilosis* y *C. guilliermondii*. (Calderone, 2002; Loeffler and Stevens, 2003)

Los mecanismos de resistencia a las equinocandinas son limitados y se basan en estudios de laboratorio en mutantes de *S. cerevisiae*. (Loeffler and Stevens, 2003; Sanglard and Odds, 2002)

EVALUACIÓN DE LA SENSIBILIDAD A LOS ANTIMICÓTICOS

La aparición de resistencias primarias o adquiridas a la 5-fluorocitosina (5FC) y a algunos azoles, como el FCZ durante el periodo de tratamiento puede tener una gran importancia. Menos del 20 % de los aislamientos del serotipo B de *C. albicans*

son sensibles a la 5FC, mientras que prácticamente la totalidad de los del serotipo A, (99%) son inicialmente sensibles a este antifúngico (Quindós, y cols., 1994). En los últimos años se ha publicado un elevado número de casos de infección bucal por *C. albicans* resistentes al FCZ. (Goa and Barradell, 1995; Lischewski, y cols., 1995; Millon, y cols., 1994; Rex, y cols., 1995; White and Goetz, 1994) El amplio uso de este antifúngico hace que se tenga un mejor conocimiento de aquellos casos en los que no se consigue el objetivo terapéutico deseado. La mayoría de las resistencias se asocian a pacientes en estadios finales de la infección por el VIH (con menos de 50 CD4+ por μ l) que sufren candidosis orofaríngeas de repetición y han sido tratadas, previa e infructuosamente, con diferentes antifúngicos. (Sanglard, 2002a)

En el caso concreto de *C. albicans* la presencia de resistencias es más baja que en otras especies, como *C. krusei* o *C. glabrata*. *C. krusei* es intrínsecamente menos sensible al FCZ y las CMI_s son elevadas antes del tratamiento antifúngico. (Goa and Barradell, 1995) La caracterización subespecífica de los aislamientos de *C. albicans* de pacientes infectados por el VIH muestra la presencia de biotipos o genotipos diferentes con sensibilidad variable a los azoles en algunos enfermos. La aparición de nuevos episodios de candidosis orofaríngeas sería resultado de la selección de los biotipos o genotipos con menor sensibilidad al antifúngico. En otros pacientes, los nuevos episodios se relacionarían con cambios en el fenotipo (probablemente por la presión antifúngica selectiva) en aislamientos con el mismo o diferente genotipo. (Lischewski, y cols., 1995; Millon, y cols., 1994)

La diversidad de subtipos existentes en cada paciente puede estar más relacionada con una selección por el tratamiento con FCZ de los genotipos más resistentes (ya presentes en el nicho bucal) que por una nueva infección con

genotipos diferentes. La persistencia prolongada de un mismo biotipo en un paciente indicaría que la candidosis orofaríngea se debe más probablemente a que *C. albicans* se aprovecha de una situación de disfunción inmunológica y no a determinadas propiedades específicas de un biotipo más virulento. (Millon, y cols., 1994; Sanglard, 2002a)

El riesgo de aparición de resistencias a los antifúngicos en pacientes con tratamientos prolongados hace necesario el estudio in vitro de la sensibilidad antifúngica. El interés de la evaluación de la sensibilidad a los antifúngicos se basa principalmente en la necesidad del laboratorio clínico de proporcionar datos fiables que permitan seleccionar el fármaco más adecuado para el tratamiento. Para conseguir este objetivo, es importante una adecuada valoración cuantitativa, que prediga si un aislamiento clínico es resistente in vitro a un antifúngico (resistencia microbiológica) y, a su vez, una certera valoración cualitativa (utilidad pronóstica) que sirva para predecir la respuesta clínica cuando se emplea dicho antifúngico en el tratamiento. Otras razones, no menos importantes para la existencia de estas pruebas, son la necesidad de explicar los aparentes fallos terapéuticos o los problemás asociados con las resistencias primarias y secundarias en determinadas especies fúngicas a antifúngicos concretos. Estas pruebas son útiles especialmente en pacientes con defectos inmunitarios o neutropenia, en infecciones recidivantes mucocutáneas y en las micosis diseminadas que no responden al tratamiento inicial. La importante iniciativa emprendida en la búsqueda de nuevas moléculas antifúngicas requiere a su vez, la existencia de técnicas confiables que permitan su adecuada evaluación in vitro antes de poder ser utilizadas en fases experimentales posteriores. Deben realizarse estudios de la sensibilidad a la 5FC de las cepas

aisladas, siempre que se vaya a emplear este antifúngico como alternativa terapéutica en infecciones por levaduras. Como se han observado resistencias adquiridas es importante evaluar la sensibilidad de los aislamientos obtenidos después de fallos terapéuticos o recaídas. Aunque la mayoría de los aislamientos son sensibles a la AmB, existen aislamientos de *Candida* que pueden ser resistentes, principalmente en la especie *Candida lusitanae*.

MÉTODOS DE ESTUDIOS DE ACTIVIDAD *IN VITRO* A LOS ANTIFÚNGICOS Y EVALUACIÓN DE RESISTENCIA

Los métodos de estudio de la sensibilidad a los antifúngicos se dividen en métodos de difusión, que se basan en la difusión del antifúngico (concentración fija en discos de papel, en tabletas o en tiras plásticas) en un agar donde se ha inoculado previamente el aislamiento, midiéndose los halos de inhibición del crecimiento y los métodos de dilución, basados en la utilización de diferentes concentraciones de antifúngico en agar o caldo (medio de cultivo líquido). Entre estos últimos, las recomendaciones actuales van encaminadas a la utilización de un medio sintético, como el RPMI 1640 (suplementado o no con un 2% de glucosa), tamponado con ácido morfolino-propanosulfónico a pH 7 y los antifúngicos diluidos en dimetilsulfóxido, empleando un inóculo ajustado por espectrofotometría de 1 a 5×10^4 células/ml y una incubación a 35 °C durante 24-48 h. (Calderone, 2002; Calvo, y cols., 1996; Carrillo-Muñoz, y cols., 1994; Espinel-Ingroff, y cols., 2002; Quindós, y cols., 1994; Sanglard, 2002a; Sanglard y Odds, 2002)

El método de microdilución en caldo (M27-A2) ha sido estandarizado por la NCCLS a través de los años desarrollando estudios colaborativos. En uno de ellos se realizó una prueba de sensibilidad directa en cultivos positivos de sangre

conteniendo levaduras. Se estudiaron 141 aislamientos de *Candida* a partir de sangre con el E-test y método de microdilución en caldo; concluyeron que excepto para el ITZ, el E-test es un método factible que muestra buena correlación con el de microdilución y que se trata de un método simple donde se obtienen resultados entre 24 y 48 horas después de la inoculación (Chang, y cols., 2001). Así mismo se ha demostrado que el E-test es un método potencial para identificar los aislamientos de *Candida* resistentes a la AmB (Clancy and Nguyen, 1999). (Barry, y cols., 2002) y cols proponen una modificación para el método de microdilución en caldo, sugiere que la lectura se haga a las 48 h de inoculación en RPMI adicionado con 2% de glucosa.

El incremento de la incidencia de infecciones por levaduras y el aumento de resistencias a los antifúngicos, ha producido un importante desarrollo de diferentes métodos para medir la sensibilidad a los antifúngicos, algunos estudios han comparado diferentes métodos comerciales con los estándares de la NCCLS, en uno de ellos se compararon 6 diferentes métodos con el método estandarizado de la NCCLS M27-A, los resultados de concordancia inter e intralaboratorio fueron para el sistema de difusión de disco 96.7%, Etest 93.1%, Sensititre Yeast One 93.1%, Fungitest 92.6%, Integral System Yeast 40.6% y Candifast 6.0%, lo que indica que todos excepto los dos últimos mostraron buena correlación con el estándar. (Morace, y cols., 2002)

OBJETIVO GENERAL

Determinar la prevalencia de la colonización por *Candida*, la frecuencia de especies y los patrones de sensibilidad antifúngica *in vitro* de los aislamientos de una población mexicana de sujetos adultos y pediátricos con o sin infección por VIH+/SIDA, que presentan o no candidosis bucal, así como las diferencias que existen entre los grupos de estudio

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar los datos demográficos de la población de estudio.
2. Determinar el conteo de células CD4 y la carga viral por categorías de los pacientes con VIH+/SIDA.
3. Determinar la prevalencia de Candidosis bucal y sus tipos clínicos en la población total y por cada grupo de estudio.
4. Determinar la prevalencia de la colonización por *Candida* en la población total y por cada grupo de estudio.
5. Determinar la frecuencia de especies de *Candida* de los aislamientos de la población total, por cada grupo de estudio y según la colonización por *Candida* y el tipo clínico de candidosis.
6. Determinar la frecuencia de cepas sensibles y resistentes a seis antifúngicos de la población total y en cada uno de los grupos de estudio.
7. Analizar la asociación entre la cuenta de células CD4+, la carga viral (VIH RNA) y la TARGA con la colonización por *Candida*, en los pacientes VIH+/SIDA.
8. Analizar la asociación entre la cuenta de células CD4, la carga viral y la terapia antirretroviral altamente activa con la presencia de candidosis, en los pacientes VIH+/SIDA
9. Analizar la relación entre la sensibilidad a los antifúngicos y la especie identificada de *Candida* en la población total y en cada uno de los grupos de estudio.
10. Analizar la relación entre la sensibilidad a los antifúngicos y la especie identificada de *Candida* en los pacientes colonizados y según clínico de candidosis.

11. Analizar la relación entre la sensibilidad a los antifúngicos y el serotipo identificado de *Candida albicans* en la población total y en cada uno de los grupos de estudio.

HIPÓTESIS

- La prevalencia de la colonización de levaduras en la cavidad bucal de pacientes VIH+/SIDA es más alta que en personas sanas.
- La frecuencia de *C. albicans* es más alta que cualquier otra especie del género tanto en pacientes VIH+/SIDA como en personas sanas
- La frecuencia de casos de resistencia de los aislamientos de levaduras es más alta a los antifúngicos azólicos que a la Anfotericina B o la 5-Fluorocitocina.
- El estatus de portador de levaduras, se asocia con el número de células CD4+ o la carga viral en los pacientes VIH+/SIDA.
- La presencia de candidosis, se asocia con el número de células CD4+ o la carga viral en los pacientes VIH+/SIDA.
- La TARGA disminuye la colonización de *Candida* spp., y la presencia de candidosis bucal en pacientes VIH+/SIDA.
- Los aislamientos de *C. glabrata* son menos sensibles o resistentes a los antifúngicos azólicos que el resto de las especies.
- Los aislamientos del serotipo B de *C. albicans* son menos sensibles o resistentes a los antifúngicos que el resto de las especies.

11. Analizar la relación entre la sensibilidad a los antifúngicos y el serotipo identificado de *Candida albicans* en la población total y en cada uno de los grupos de estudio.

HIPÓTESIS

- La prevalencia de la colonización de levaduras en la cavidad bucal de pacientes VIH+/SIDA es más alta que en personas sanas.
- La frecuencia de *C. albicans* es más alta que cualquier otra especie del género tanto en pacientes VIH+/SIDA como en personas sanas
- La frecuencia de casos de resistencia de los aislamientos de levaduras es más alta a los antifúngicos azólicos que a la Anfotericina B o la 5-Fluorocitocina.
- El estatus de portador de levaduras, se asocia con el número de células CD4+ o la carga viral en los pacientes VIH+/SIDA.
- La presencia de candidosis, se asocia con el número de células CD4+ o la carga viral en los pacientes VIH+/SIDA.
- La TARGA disminuye la colonización de *Candida* spp., y la presencia de candidosis bucal en pacientes VIH+/SIDA.
- Los aislamientos de *C. glabrata* son menos sensibles o resistentes a los antifúngicos azólicos que el resto de las especies.
- Los aislamientos del serotipo B de *C. albicans* son menos sensibles o resistentes a los antifúngicos que el resto de las especies.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El SIDA representa una epidemia incontrolada hasta hoy, con un incremento notable de los casos en los últimos años, en particular de los pacientes pediátricos.

La candidosis bucal representa la principal infección asociada al paciente con SIDA; es una de sus primeras manifestaciones desde el inicio del padecimiento y cursa periódicamente durante todo el desarrollo de la enfermedad. En pacientes con VIH+/SIDA la presencia de candidosis sugiere una disminución de las células T CD4+ por debajo de $200/\mu\text{m}^3$, lo que representa un mal pronóstico para el paciente VIH positivo ya que se espera una inminente progresión a SIDA.

Especies de *Candida* forman parte de la microbiota nativa en la mayoría de los individuos sanos, por ello la candidosis representa una infección endógena importante en todo paciente que presente algún factor predisponente como puede ser algún grado de inmunosupresión. Se puede presentar de diversas maneras; desde un aumento en la biota de levaduras hasta formas clínicas incipientes y cuadros severos.

C. albicans, *C. dubliniensis* y otras especies emergentes no-*C. albicans*, muestran un incremento en sus factores de virulencia como resultado a la adaptación de las condiciones del hospedero lo que incluye un aumento en los casos de resistencia a los tratamientos antifúngicos empleados actualmente ya sea de manera adquirida o intrínseca. La dificultad en la implementación de alguna de las técnicas disponibles para el estudio de la sensibilidad y resistencia a los antifúngicos, así como la estandarización de dichas técnicas se ve reflejada en el fracaso terapéutico, en el

aumento de los casos de resistencia y en la consecuente adaptación de las especies a estas condiciones con el incremento de sus factores de virulencia.

JUSTIFICACIÓN

En pacientes con SIDA la candidosis bucal y esofágica hace que su calidad de vida disminuya debido a las molestias de la infección y a su notable persistencia causada por la resistencia a los antifúngicos, particularmente los antifúngicos azólicos y en especial el FCZ.

En México, muchos laboratorios clínicos no han implementado pruebas de sensibilidad antifúngica, se conoce poco acerca de los perfiles de sensibilidad antifúngica de aislamientos clínicos de levaduras. Para determinar la prevalencia de la colonización por *Candida* con y sin candidosis bucal, así como los patrones de sensibilidad antifúngica en una población mexicana, hemos realizado un estudio prospectivo que representa uno de los primeros reportes de perfiles de sensibilidad antifúngica de levaduras bucales de pacientes VIH+/SIDA en México D.F.

aumento de los casos de resistencia y en la consecuente adaptación de las especies a estas condiciones con el incremento de sus factores de virulencia.

JUSTIFICACIÓN

En pacientes con SIDA la candidosis bucal y esofágica hace que su calidad de vida disminuya debido a las molestias de la infección y a su notable persistencia causada por la resistencia a los antifúngicos, particularmente los antifúngicos azólicos y en especial el FCZ.

En México, muchos laboratorios clínicos no han implementado pruebas de sensibilidad antifúngica, se conoce poco acerca de los perfiles de sensibilidad antifúngica de aislamientos clínicos de levaduras. Para determinar la prevalencia de la colonización por *Candida* con y sin candidosis bucal, así como los patrones de sensibilidad antifúngica en una población mexicana, hemos realizado un estudio prospectivo que representa uno de los primeros reportes de perfiles de sensibilidad antifúngica de levaduras bucales de pacientes VIH+/SIDA en México D.F.

MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO

De acuerdo con las características y objetivos planteados en éste estudio es un estudio de tipo transversal descriptivo y analítico, que se llevó a cabo durante un periodo de cuatro años aproximadamente.

Las variables y su escala de medición se presentan en la matriz para la operacionalización de variables (Anexo 1).

POBLACIÓN DE ESTUDIO Y MUESTRA

La muestra fue conformada por el total de pacientes disponibles, a los cuales se les pudiera dar seguimiento durante el periodo de estudio, el tipo de la muestra fue de tipo conveniencia.

El estudio de prevalencia fue conducido durante un periodo de tres años, en 111 pacientes VIH+/SIDA y 201 personas no infectadas por el VIH (se consideraron no infectadas en base a datos clínicos y factores de riesgo), provenientes del Hospital General de México y el Hospital Infantil "Federico Gómez" para el caso de los pacientes VIH/SIDA, y de las clínicas de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México para el caso de los pacientes presuntamente no infectados por el VIH. Los pacientes fueron distribuidos en cuatro diferentes grupos: I) adultos VIH+/SIDA, II) adultos portadores de prótesis VIH-, III) niños VIH+/SIDA y IV) niños aparentemente sanos, incluyendo 51, 109, 60 y 92 personas, respectivamente. Fueron recolectados los datos demográficos de los pacientes, historia de infecciones fúngicas previas, tratamientos antifúngicos y medicaciones, como el seguimiento de un régimen estable con TARGA (combinación de tres drogas durante un periodo previo de tres meses antes del estudio). Los

pacientes elegidos para el estudio no debieron estar sometidos a tratamiento antifúngico tópico o sistémico en un periodo de seis meses antes del estudio. De la evaluación clínica de los pacientes VIH/SIDA se obtuvo la carga viral de VIH RNA y cuentas celulares de células CD4+. Los voluntarios sanos fueron seleccionados de las personas que se atienden en las clínicas dentales de la Facultad de Odontología de la Universidad Nacional Autónoma de México. Fue obtenido un consentimiento informado de todos los pacientes. Para el inicio de este estudio fue obtenida la aprobación del comité ético, de investigación y publicaciones de la Universidad Nacional Autónoma de México y del resto de las instituciones médicas involucradas. Se evaluó la prevalencia, microbiología y patrones de sensibilidad antifúngica de las levaduras aisladas de la colonización o infección de la cavidad bucal de los pacientes.

METODOLOGÍA

ESPECIMENES CLÍNICOS, MÉTODOS MICROBIOLÓGICOS E IDENTIFICACIÓN DE AISLAMIENTOS

Se obtuvieron muestras de las lesiones bucales candidósicas (cuando se presentaban, según criterios clínicos descritos en el apartado de presentación clínica), de la mucosa bucal, el piso de la boca y la superficie dorsal de la lengua, ya que estos sitios en la cavidad bucal han sido reportados con la más alta frecuencia de colonización. Cada una de las muestras fue colectada frotando intensamente un hisopo estéril por repetidas ocasiones sobre la superficie bucal en particular. Inmediatamente después de la toma de la muestra, cada muestra fue colocada en un tubo estéril con medio de transporte. Los especímenes bucales fueron transportados al laboratorio en un periodo no superior a 2 h después de la colección de la muestra.

Cada espécimen fue codificado de acuerdo al grupo de pacientes de estudio y posteriormente fueron sembrados en placas de agar glucosado de Sabouraud suplementado con cloranfenicol e incubados a 36°C (± 1 C) por dos días y por un periodo de siete días adicionales a 30 C ($\pm 1^\circ\text{C}$) antes de descartarlos como negativos. Las especies levaduriformes fueron identificadas por medio de métodos micológicos estandarizados, como la prueba de tubo germinativo, la morfología microscópica en Agar harina de maíz Tween-80 (*Corn meal agar-Tween 80*) (levaduras, formación de pseudohifas e hifas verdaderas, así como producción de clamidoconidias) y la asimilación de carbohidratos por medio del sistema IDE 32 C AUX (BioMerieux, Lyon, Francia) (Williams & Lewis 2000). Todos los aislamientos de *C. albicans* fueron serotipados por medio de un ensayo de inmunofluorescencia indirecta con el anticuerpo monoclonal B9E (Barturen y cols. 1995). Adicionalmente para la identificación presuntiva de *C. dubliniensis*, todos los aislamientos identificados como *C. albicans*, fueron probados para el crecimiento a 45 °C (± 1 °C) por 48 h en agar dextrosa Sabouraud (Pinjon y cols. 1998), y en agar Caseína (Mosca y cols., 2003) para la producción de clamidoconidias, así como por el ensayo de inmunofluorescencia indirecta con el antisuero policlonal contra esta especie (Bikandi y cols 1998). Los aislamientos fueron almacenados en agua estéril a temperatura ambiente para su posterior uso.

PRUEBAS DE SENSIBILIDAD A ANTIFÚNGICOS

Para las pruebas de sensibilidad a antifúngicos cada aislamiento fue cultivado en agar dextrosa Sabouraud y en CHROMagar Candida (CHROMagar, Paris, Francia) para valorar la pureza y viabilidad. La sensibilidad antifúngica fue probada por medio

del panel Fungitest (Bio-Rad, Paris, Francia), de acuerdo a las instrucciones de manufactura. Este es una microplaca de 16 pozos que mide la sensibilidad de levaduras a 5FC, AmB, MCZ, KTZ, FCZ e ITZ en un medio RPMI 1640 modificado en presencia de un indicador redox. Cada droga antifúngica fue probada a dos diferentes concentraciones críticas (2 y 32 µg/ ml para 5FC, 0.5 y 8 µg/ ml para AMB, 0.5 y 8 µg/ ml para MCZ, 0.5 y 4 µg/ ml para KTZ y ITZ, 8 y 64 µg/ ml para FCZ). De cada aislamiento crecido toda una noche en agar dextrosa Sabouraud a 36°C (± 1 C) se tomó un inóculo y fue suspendido en 5 ml de agua destilada estéril y agitado vigorosamente en vórtex para obtener una suspensión homogénea en agua destilada ajustada a una turbidez de (medida en un densitómetro de 530 nm) 1 McFarland. Esta dilución se realiza para obtener una concentración de inóculo de aproximadamente $0.5\text{--}2.5 \times 10^3$ cels/ml. Las microplacas de Fungitest fueron inoculadas e incubadas a 36 °C (± 1 °C) y los resultados fueron leídos antes de 48 h como lo recomienda el fabricante. Fueron incluidas como cepas de control de calidad *C. parapsilosis* (ATCC 22019) y *C. krusei* (ATCC 6258). Los criterios de identificación antifúngica fueron los sugeridos por el fabricante, como susceptible, intermedio o resistente: los aislamientos que inhibieron el crecimiento en ambas concentraciones fueron definidos como susceptibles, si sólo fueron inhibidos por la más alta de las concentraciones como intermedios y si no fueron inhibidos por ninguna de las concentraciones como resistentes (Willinger 2000-2002).

SENSIBILIDAD A FLUCONAZOL Y VORICONAZOL

Recientemente se ha descrito el método M 44P del NCCLS, descrito para la evaluación de la sensibilidad al FCZ y VCZ. Se ha recomendado el uso del VCZ, un potente monotriazol administrado vía bucal o parenteral, ya que ha mostrado ser mucho más potente que el fluconazol o el itraconazol, los datos lo sugieren como el tratamiento efectivo contra candidosis esofágica refractaria al FCZ en pacientes VIH+/SIDA (Cuenca-Estrella, y cols., 1999). (Marco, y cols., 1998) y cols En este estudio realizamos el método de difusión de disco de FCZ y VCZ como es descrito en el documento M44-P de la NCCLS (2002). Se utilizaron discos de FCZ (25 µg) y VCZ (1 µg) que fueron facilitados por Becton Dickinson (Sparks, EE.UU. de América). Para la prueba de difusión de disco se utilizaron placas de 90-mm-diámetro conteniendo agar Mueller-Hinton agar (Difco) suplementado con 2% de glucosa y azul de metileno (0.5 µg/ml). La superficie del agar fue inoculada usando un hisopo estéril suspendido en una suspensión de levaduras ajustado a una turbidez estandarizada de 0.5 McFarland. Las placas fueron incubadas a 37°C y las lecturas se realizaron a las 24 y 48 h. Los criterios de interpretación para los discos de FCZ fueron los publicados por el NCCLS: susceptible, zona diámetro de ≥ 19 mm; susceptible-dosis dependiente, zona diámetro de 15 a 18 mm; resistente, zona diámetro de ≤ 14 mm. La interpretación de los puntos de corte no ha sido completamente establecida para VCZ una zona diámetro de ≤ 13 mm fue considerada como un indicador de resistencia in vitro como lo propone Pfaller y cols (2003). El control de calidad fue realizado de acuerdo con el documento M44-P del NCCLS, se utilizó *C. albicans* ATCC 90028, *C. krusei* ATTC 6258 y *C. parapsilosis*

ATCC 22019. Se determinó el control de calidad cada día de prueba siguiendo los límites de prueba descritos por el NCCLS.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para medir las diferencias entre las variables continuas se utilizó la prueba de T de Student, tanto para las diferencias entre medias y porcentajes. Las diferencias entre las variables categóricas fueron evaluadas con la prueba de Chi cuadrada. Se consideró una $p < 0,05$ como estadísticamente significativa.

RESULTADOS

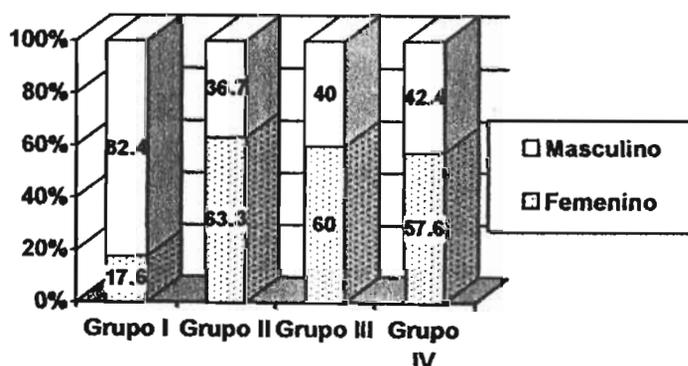
Objetivo 1. Determinar los datos demográficos de la población de estudio.

DATOS DEMOGRÁFICOS DEL TOTAL DE LA POBLACIÓN

Los resultados han sido reportados parcialmente en algunas publicaciones; para la población pediátrica en el estudio I (Gaitán-Cepeda L y cols, 2002) y para el total de los pacientes en los estudios II, III y IV (Sánchez-Vargas LO y cols, 2005). Los datos demográficos, clínicos y microbiológicos del total de los pacientes se presentan en la Tabla 7 (Anexos).

Se estudiaron 312 personas, divididas en cuatro grupos de estudio: Grupo I: 51 Adultos VIH+/SIDA (9 mujeres, 42 hombres) con un promedio de edad de 36.4 años; Grupo II: 109 adultos sin infección por VIH (69 mujeres, 40 hombres) con un promedio de edad de 64.4 años; Grupo III: 60 niños VIH+/SIDA (36 niñas, 24 niños) con un promedio de edad de 5.1 años; y el Grupo IV: 92 niños sin infección por VIH (53 niñas, 39 niños) con un promedio de edad de 6.9 años.

Gráfica 1. Género por grupos de estudio

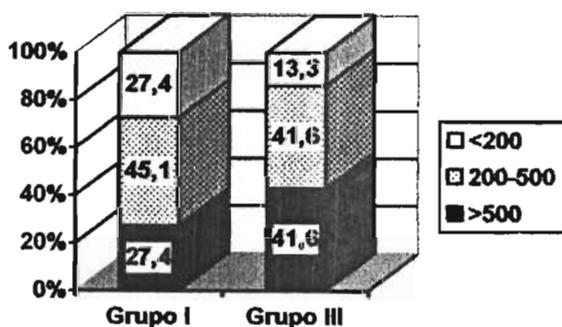


Objetivo 2. Determinar el conteo de células CD4 y la carga viral por categorías de los pacientes con VIH+/SIDA.

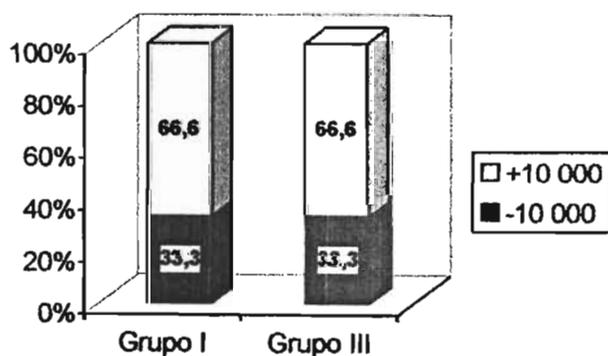
DATOS CLÍNICOS

El conteo de células CD4 y la carga viral por categorías de los pacientes con VIH+/SIDA se presenta en las gráficas 2 y 3.

Gráfica 2. Conteo de Linfocitos TCD4+/ μ l



Gráfica 3. Carga viral (VIH RNA/ml) por Grupo



Objetivo 3. Determinar la prevalencia de Candidosis bucal y sus tipos clínicos en la población total y por cada grupo de estudio.

TIPOS CLÍNICOS DE CANDIDOSIS

Se diagnosticaron tres diferentes presentaciones clínicas de candidosis bucal incluyendo seudomembranosa, eritematosa y estomatitis protésica (Tabla 7 Anexos).

Grupo I Adultos VIH+/SIDA (N=38 pacientes)

El tipo pseudomembranoso fue la presentación clínica más común de candidosis bucal en adultos VIH+/SIDA con 32 casos (62.7%), se presentaron 6 casos (11.7%) de la forma eritematosa 5 de estos en un tipo combinado seudomembranoso/eritematoso (9.8%) (los pacientes infectados por *Candida* en su mayoría fueron mujeres, $p < 0.05$).

Grupo II Adultos portadores de prótesis sin infección por el VIH (N=109 pacientes)

42 casos (38.5%) presentaron estomatitis protésica (la mayoría de estos mujeres, $p < 0,05$), 4 pacientes (3.7%) presentaron candidosis bucal tipo pseudomembranoso, 6 pacientes (5.5%) presentaron una forma combinada seudomembranosa/eritematosa y sólo uno presentó lesiones eritematosas.

Grupo III Niños VIH+/SIDA (N=60 pacientes)

Siete niños (11.7%) padecieron candidosis bucal del tipo clínico eritematoso.

Grupo IV Niños sin infección por el VIH

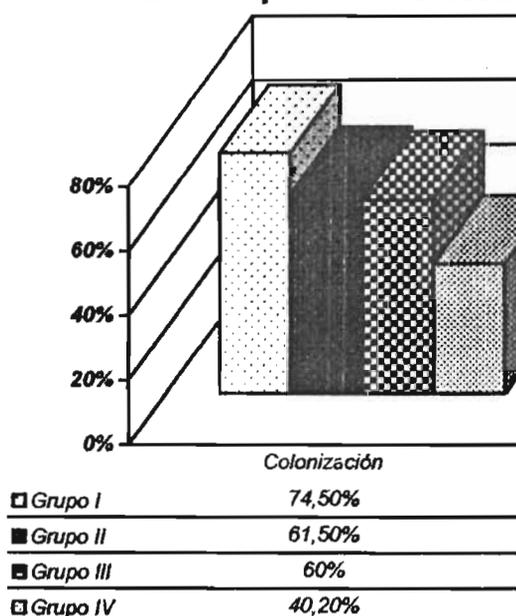
Ninguno de los niños sanos estudiados presentó candidosis bucal.

Objetivo 4. Determinar la prevalencia de la colonización por *Candida* en la población total y por cada grupo de estudio.

DATOS DE COLONIZACIÓN

Se aislaron levaduras en 178 de 312 personas (57.1 %). La colonización como portador o con infección por levaduras fue más alta en adultos VIH+/SIDA (74.5 %) y adultos sin infección por VIH (61.5 %) que en niños VIH+/SIDA (60 %) o sin infección por VIH (40.2 %). (Tabla 7 anexos) (Gráfica 4)

Gráfica 4. Frecuencia de especies de levaduras por estatus clínico

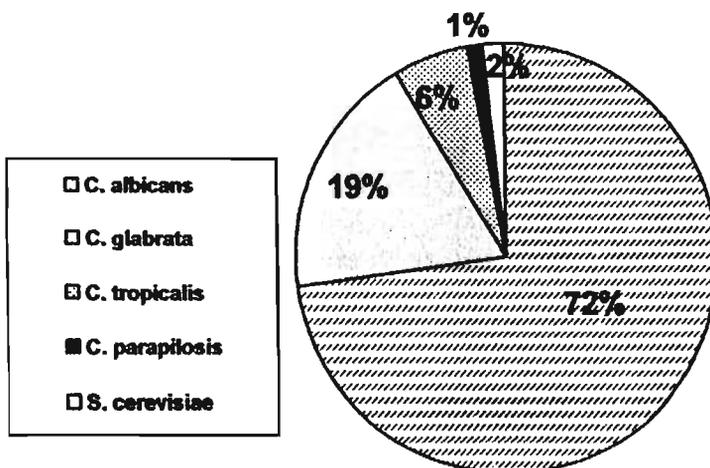


Objetivo 5. Determinar la frecuencia de especies de *Candida* de los aislamientos de la población total, por cada grupo de estudio y según la colonización por *Candida* y el tipo clínico de candidosis.

IDENTIFICACION DE LOS AISLAMIENTOS

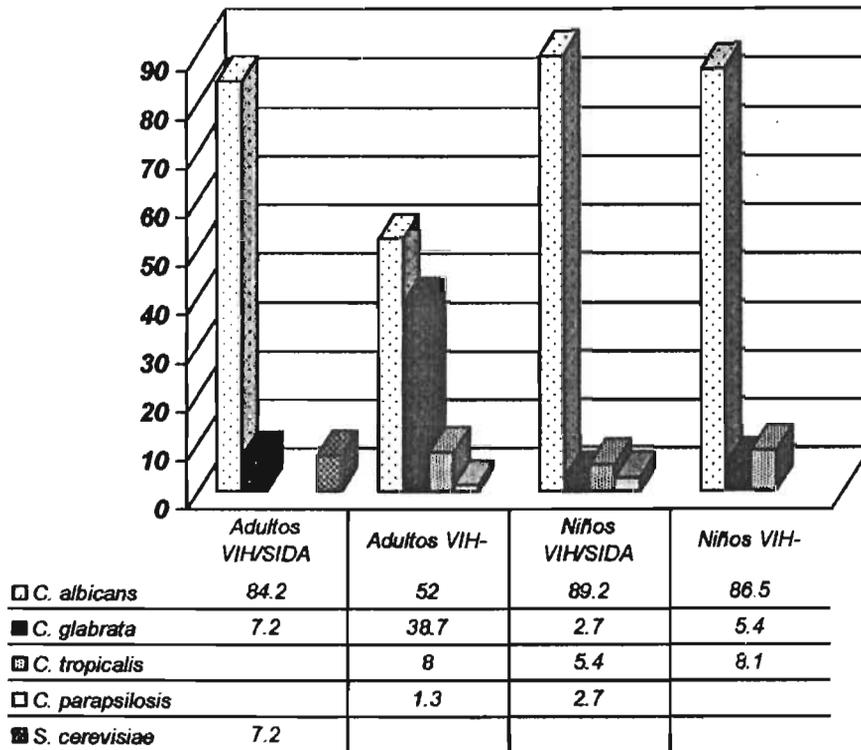
Se obtuvieron 187 aislamientos de levaduras de 178 pacientes colonizados (57.1% del total de la población N=312 pacientes). En nueve muestras se aislaron dos especies a la vez. Del total de los aislamientos 136 (42.4%) correspondieron a *C. albicans*; 35 (10.9%) a *C. glabrata*; 11 (3.4%) a *C. tropicalis*; 2 (0.6%) a *C. parapsilosis* y 3 (0.9%) a *S. cerevisiae*. (Tabla 8 anexos). (Gráfica 5)

Gráfica 5. Distribución de especies del total de los aislamientos (%)



La distribución de especies por grupo de estudio se presenta en la Tabla 9 (anexos) y Gráfica 6.

Gráfica 6. Distribución de especies por grupo de estudio (%).



ESPECIES DE *CANDIDA* SEGÚN TIPO CLÍNICO

C. albicans fue la especie aislada más frecuente en los pacientes colonizados o infectados (Tabla 10). 71 de 85 aislamientos de casos de colonización fueron por *C. albicans* (83.5 %), siendo 48 de estos de mujeres (56.5 %). 72 aislamientos correspondieron al serotipo A, el cual fue el serotipo más prevalente de *C. albicans* en los cuatro grupos de pacientes.

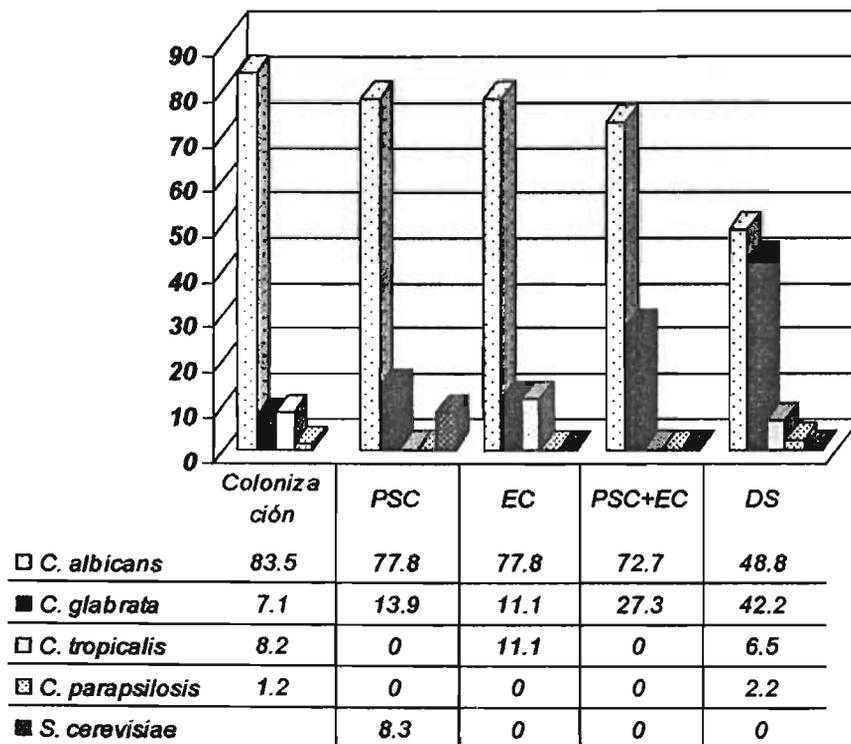
C. albicans fue la levadura más aislada en todas las presentaciones clínicas de candidosis bucal: 77.8 % de los aislamientos de pacientes con candidosis seudomembranosa, 77.8 % de los aislamientos de candidosis eritematosa y 72.7 % de los aislamientos de pacientes con candidosis combinada, seudomembranosa/eritematosa. (Gráfica 7)

En los casos de estomatitis protésica *C. albicans* representa solo el 48.8% de los aislamientos, *C. glabrata* representa el 41.3% de los aislamientos. (Gráfica 7)

Las especies no-*C. albicans* solo fueron aisladas de 14 pacientes colonizados (16.5%): 6 *C. glabrata*, 7 *C. tropicalis* y 1 *C. parapsilosis*. (Gráfica 7)

Estas especies también fueron aisladas de 42 pacientes (38.5%) con candidosis o lesiones relacionadas a *Candida*, como estomatitis protésica, presentándose 29 *C. glabrata*, 4 *C. tropicalis*, 1 *C. parapsilosis* y 3 *S. cerevisiae* (estos últimos tres de pacientes con lesiones pseudomembranosas). (Gráfica 7)

Gráfica 7. Frecuencia de especies de levaduras por estatus clínico (%)



PSC= Candidosis pseudomembranosa; EC= Candidosis eritematosa; DS= Estomatitis protésica; y PSC+EC= Seudomembranosa/eritematosa

Se presentaron nueve casos de infección o colonización mixta por dos diferentes especies levaduriformes simultáneas, seis cultivos de *C. albicans* con *C. glabrata*, y uno de *C. albicans* con *C. tropicalis*, uno de *C. glabrata* con *C. tropicalis*, y uno más de *C. glabrata* con *C. parapsilosis*.

El resto de las características micológicas y clínicas de los aislamientos se presenta en la Tabla 10 (anexos)

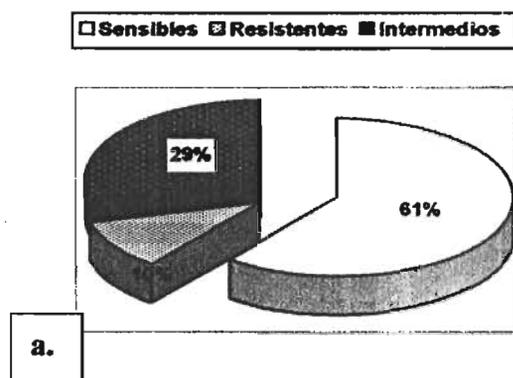
Objetivo 6. Determinar la frecuencia de cepas sensibles y resistentes a seis antifúngicos en la población total y en cada uno de los grupos de estudio.

SENSIBILIDAD A ANTIFÚNGICOS

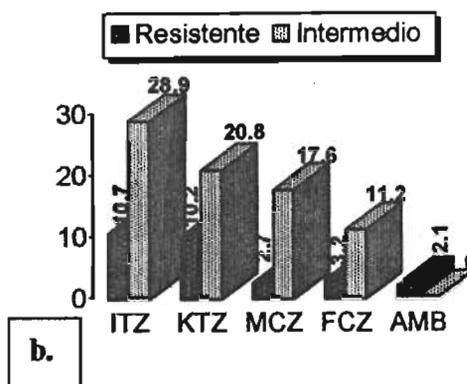
El total de los aislamientos mostraron patrones de sensibilidad a los antifúngicos de la siguiente manera: el 10.8% de las levaduras aisladas fueron resistentes a uno o más agentes antifúngicos azólicos y el 29% presentaron sensibilidad intermedia a estos, siendo para ITZ (10.7% y 28.9% aislamientos resistentes o intermedios, respectivamente) y KTZ (10.2% y 20.8%, aislamientos resistentes o intermedios, respectivamente) que fue el agente antifúngico menos activo de los probados (Tabla 11). Se observó menor frecuencia en la resistencia al MCZ (2.7 % y 17.6 %, aislamientos resistentes o intermedios, respectivamente) y al FCZ (3.2 % y 11.2 %, aislamientos resistentes o intermedios, respectivamente). AMB fue activa contra el 97.9% de estos (dos *C. albicans*, y uno de *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* fueron clasificados como intermedios) (Tabla 12) y 5FC fue el más activo contra todos los aislamientos probados (Gráfica 8)

Gráfica 8. Sensibilidad (%) a los antifúngicos del total de los aislamientos.

a. Total de antifúngicos.



b. Por cada antifúngico probado



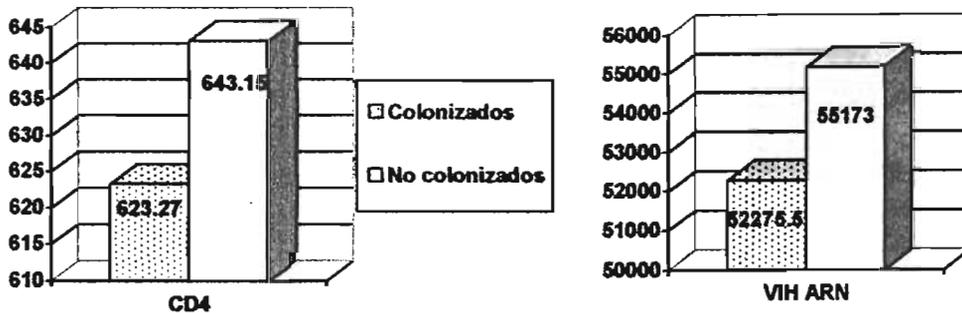
Objetivo 7. Analizar la asociación entre la cuenta de células CD4+, la carga viral (VIH RNA) y la TARGA con la colonización por *Candida*, en los pacientes VIH+/SIDA.

CD4+, carga viral y TARGA en pacientes colonizados sin infección por levaduras

El estado de portador bucal de levaduras no fue asociado con el número de células CD4+ (media de cels CD4+: 623.27 cels/ μ l en pacientes colonizados y 643.15 cells/ μ l en no colonizados), tampoco la carga viral (media de VIH ARN: 52,275.50 copias/ml en pacientes colonizados y 55,173.03 copias/ml en no colonizados). (Gráfica 9) De manera similar, el régimen antiviral no influenció el estatus de portador de levaduras. Se encontró que el 69.4% de pacientes bajo terapia antirretroviral (TARGA) fueron colonizados por levaduras, sin embargo; los niños VIH+/SIDA con cuentas celulares

de CD4+ <500 cels/ μ l fueron más colonizados por levaduras que los niños controles sanos.

Gráfica 9. Cuentas de CD4 y carga viral en pacientes colonizados y no colonizados por levaduras

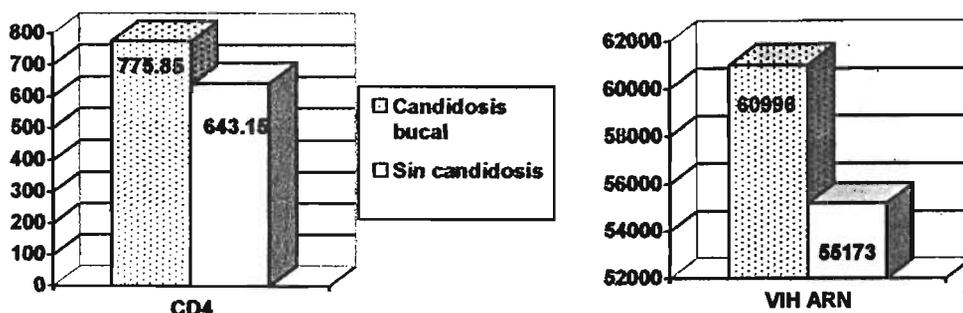


Objetivo 8. Analizar la asociación entre la cuenta de células CD4, la carga viral y la terapia antirretroviral altamente activa con la presencia de candidosis, en los pacientes VIH+/SIDA

CD4+, carga viral y TARGA en pacientes con candidosis

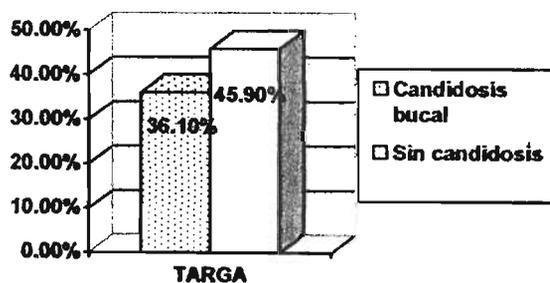
Se observaron 98 casos de candidosis bucal en 312 personas (45 eran pacientes VIH+/SIDA) La candidosis bucal en pacientes VIH+/SIDA no fue asociada con el número de células CD4+ (media de cels CD4+: 775.85 cels/ μ l en pacientes VIH+/SIDA con candidosis bucal y 643.15 cels/ μ l en pacientes VIH+/SIDA sin candidosis) tampoco la carga viral (media de VIH RNA: 60,995.95 copias/ml en pacientes VIH+/SIDA con candidosis bucal y 55,173.03 copias/ml en pacientes VIH+/SIDA sin candidosis). (Gráfica 10)

Gráfica 10. Cuentas de CD4 y carga viral en pacientes con y sin Candidosis bucal.



Sin embargo, la TARGA influyó la presencia de candidosis bucal reduciendo la frecuencia de infección bucal. Encontramos que el 36.1% de los pacientes bajo la TARGA presentó candidosis bucal comparado con el 45.9% de los pacientes sin tratamiento antirretroviral ($p < 0.05$). (Gráfica 11)

Gráfica 11. % de pacientes bajo TARGA con y sin candidosis bucal



Adicionalmente, se encontró que los niños VIH+/SIDA con cuentas de CD4+ < 500 cels/ μ l tratados con TARGA presentaron significativamente menos casos de candidosis bucal ($p < 0.05$) que los niños VIH+/SIDA no tratados con antirretrovirales.

Objetivo 9. Analizar la relación entre la sensibilidad a los antifúngicos y la especie identificada de *Candida* en la población total y en cada uno de los grupos de estudio.

Es relevante que en lo que respecta a los patrones de sensibilidad a los antifúngicos por grupos de estudio y tipo clínico de candidosis, las personas no infectadas por VIH exhibieron mayor diversidad de especies levaduriformes, pero los perfiles de sensibilidad antifúngica no fueron significativamente diferentes de los aislamientos de pacientes VIH+/SIDA, ni tampoco hay diferencias significativas por tipo clínico de candidosis (Tabla 13-14).

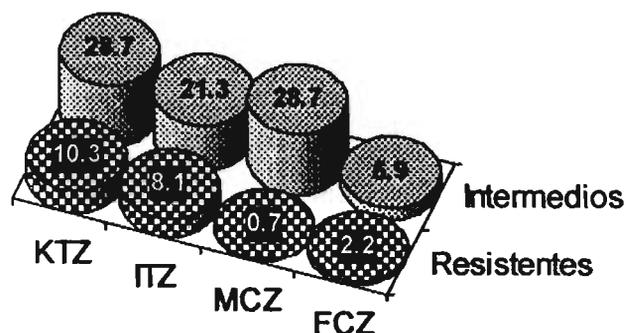
Las variaciones en los patrones de sensibilidad se presentan por especies, y hacemos mención del grupo de estudio en los casos relevantes.

SENSIBILIDAD A ANTIFÚNGICOS POR ESPECIES

C. albicans

De 136 aislamientos probados de *C. albicans*, 14 fueron resistentes al KTZ (10.3%), y 11 fueron resistentes al ITZ (8.1%). Se observó menor frecuencia en la resistencia al MCZ (0.7%) o al FCZ (2.2%). El porcentaje de aislamientos con sensibilidad intermedia a agentes azólicos fue alto: 21.3% al ITZ, 28.7% al MCZ o KTZ, y 5.9% al FCZ (Gráfica 12). No se observó resistencia ni sensibilidad intermedia a la AMB o al 5FC.

Gráfica 12. Sensibilidad (%) antifúngica de *C. albicans* por antifúngico



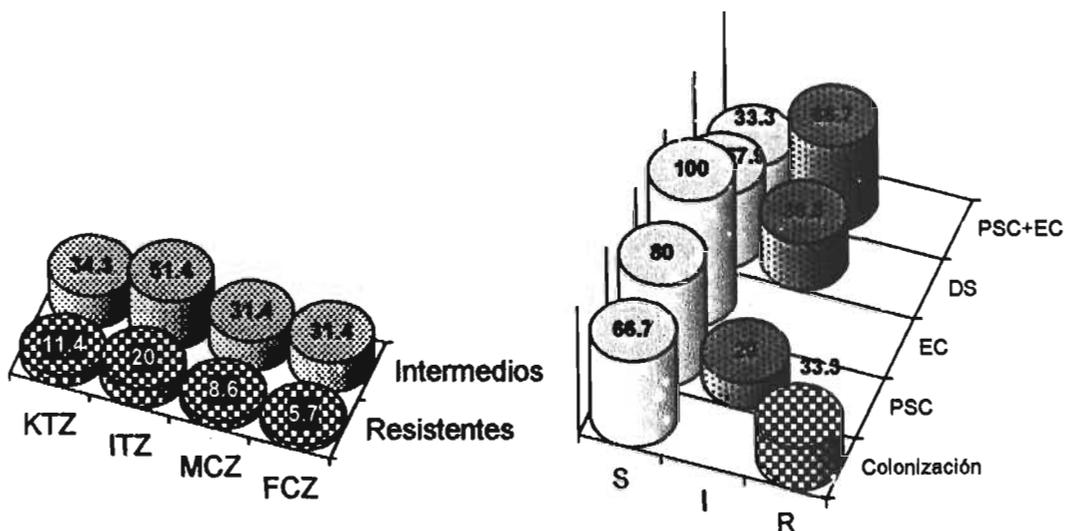
La mayoría de los aislamientos resistentes a uno de los agentes antifúngicos probados mostraron resistencia o sensibilidad intermedia a otro agente antifúngico azólico de manera simultánea. Tres aislamientos del grupo II (adultos VIH-): (uno de estos con estomatitis protésica) fueron resistentes simultáneamente a ITZ y FCZ. Otros dos aislamientos de niños VIH+/SIDA sin candidosis fueron resistentes al ITZ y KTZ simultáneamente.

Especies no-*C. albicans*

De los 35 aislamientos de *C. glabrata*, 20% (7 aislamientos) fueron resistentes al ITZ y 51.4% fueron intermedios (18 aislamientos), al KTZ 11.4% fueron resistentes (cuatro aislamientos) y 34.3% fueron intermedios (12 aislamientos), al MCZ 8.6% fueron resistentes (tres aislamientos) y 31.4% intermedios (11 aislamientos), al FCZ 5.7% fueron resistentes (dos aislamientos) y 31.4% intermedios (11 aislamientos), (Gráfica 13) ninguno fue resistente a la 5FC o AMB. La mayoría de los aislamientos resistentes fueron de personas sin infección por VIH con estomatitis protésica (Gráfica 13) los cuales no presentaron una historia reciente de tratamiento con agentes azólicos. Algunos de estos aislamientos de *C. glabrata* mostraron resistencia

combinada *in vitro* a diferentes agentes azólicos: dos aislamientos fueron resistentes al ITZ, FCZ y KTZ, otro aislamiento (de una mujer con diabetes y candidosis eritematosa) fue resistente al MCZ y KTZ, y otro aislamiento más fue resistente al ITZ y MCZ. La mayoría de los aislamientos de *C. glabrata* resistentes a uno de los agentes antifúngicos azólicos mostraron sensibilidad intermedia a otro azol.

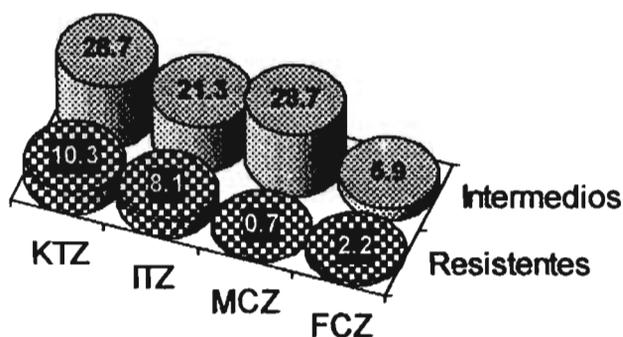
Gráfica 13. Sensibilidad (%) antifúngica de *C. glabrata* por antifúngico y tipo clínico



PSC= Candidosis pseudomembranosa; EC= Candidosis eritematosa; DS= Estomatitis protásica; y PSC+EC= Seudomembranosa/eritematosa

De 11 aislamientos de *C. tropicalis*, dos fueron resistentes al ITZ (18.2%) y cinco fueron intermedios (45.5%), uno fue resistente al KTZ o FCZ (9.1%) y dos fueron intermedios (18.2%), uno fue resistente al MCZ (9.1%) y siete intermedios (63.6%), (Gráfica 14) ninguno fue resistente a la 5FC o AMB. Solo uno de los aislamientos de *C. tropicalis* fue resistente simultáneamente al ITZ y al FCZ (de un niño sin infección por VIH, sin candidosis bucal).

Gráfica 14. Sensibilidad (%) antifúngica de *C. tropicalis* por antifúngico

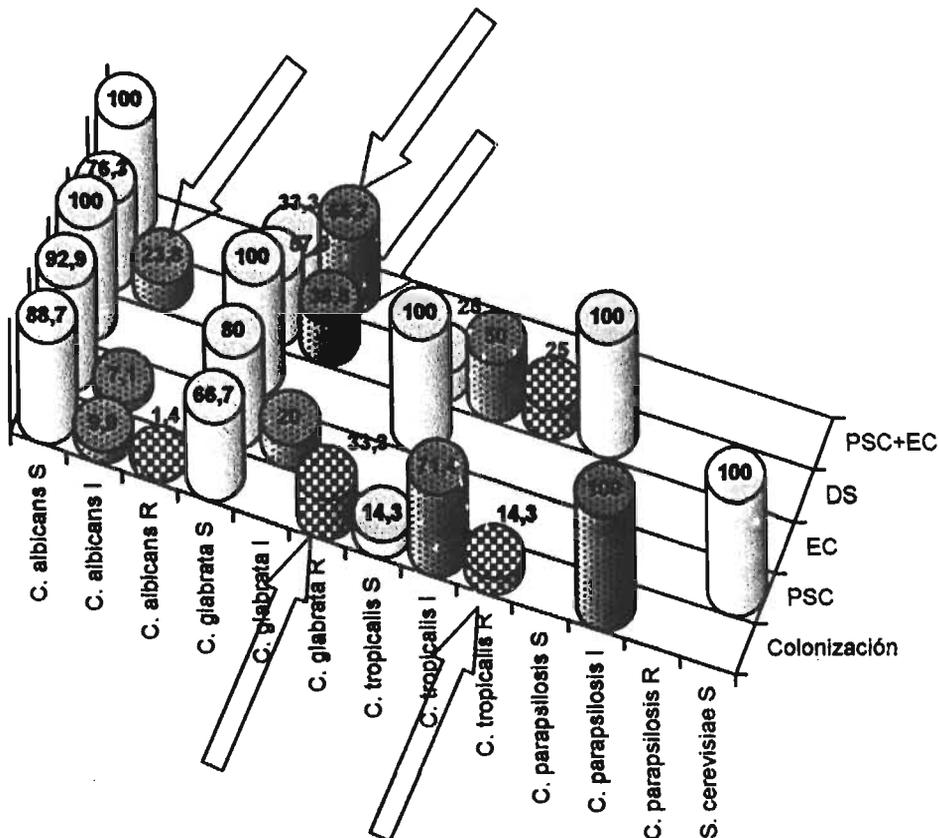


Los aislamientos de *C. parapsilosis* fueron susceptibles a la mayoría de los antifúngicos probados, sólo dos aislamientos fueron intermedios al ITZ y uno fue intermedio a la AMB y al MCZ. La única especie no-*Candida* aislada, *S. cerevisiae* mostró sensibilidad del 100% a todos los agentes antifúngicos probados.

Objetivo 10. Analizar la relación entre la sensibilidad a los antifúngicos y la especie identificada de *Candida* en los pacientes colonizados y según clínico de candidosis.

La mayoría de los aislamientos resistentes fueron de *C. glabrata*, *C. albicans* y *C. tropicalis* en casos de colonización, se observaron porcentajes significativos de sensibilidad intermedia en aislamientos de *C. albicans* y *C. glabrata* de pacientes con estomatitis protésica y tipo combinado. Los datos generales de resistencia y susceptibilidad de especies según tipo clínico se presentan en la gráfica 15.

Gráfica 15. Sensibilidad (%) antifúngica de especies de *Candida* en cada tipo clínico.



PSC= Candidosis seudomembranosa; EC= Candidosis eritematosa; DS= Estomatitis protésica; y PSC+EC= Seudomembranosa/eritematosa

Objetivo 11. Analizar la relación entre la sensibilidad a los antifúngicos y el serotipo identificado de *Candida albicans* en la población total y en cada uno de los grupos de estudio.

Fue significativo ($p < 0.05$) que cinco de 14 resistencias al KTZ se presentaron en aislamientos del serotipo B de *C. albicans*. Todos los serotipos B resistentes al KTZ fueron de pacientes VIH+/SIDA, tres de adultos con candidosis pseudomembranosa y dos de niños sin candidosis.

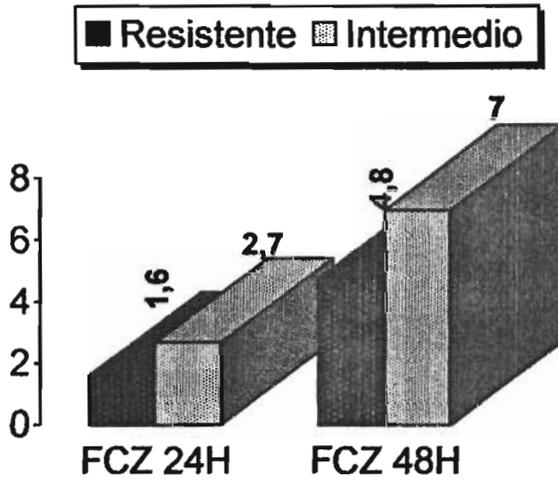
SENSIBILIDAD A FLUCONAZOL Y VORICONAZOL

Se utilizó el método M44-P del Comité Nacional de Estándares de Laboratorio Clínico para medir la actividad *in vitro* al FCZ y al voriconazol (VCZ). En el presente estudio el VCZ fue altamente activo contra todas las cepas evaluadas independientemente del tiempo de lectura (Gráfica 16) (Tabla 15 Anexos). El FCZ fue activo contra 179 de 187 aislamientos de levaduras (95.7 %). Tres aislamientos de *C. albicans* fueron resistentes al FCZ, y dos *C. albicans*, dos *C. tropicalis*, y uno de *C. glabrata* mostraron una sensibilidad intermedia a las 24 h. En las lecturas a las 48 h se observó menor frecuencia de sensibilidad *in vitro* al FCZ (88.2 % de los aislamientos fueron susceptibles) (Gráfica 16), 13 *C. albicans*, cinco *C. glabrata* y dos *C. tropicalis* fueron resistentes o susceptibles intermedios a este agente antifúngico. Se observó que el 100% de los aislamientos fue susceptible al VCZ en ambos tiempos de lectura (Gráfica 16).

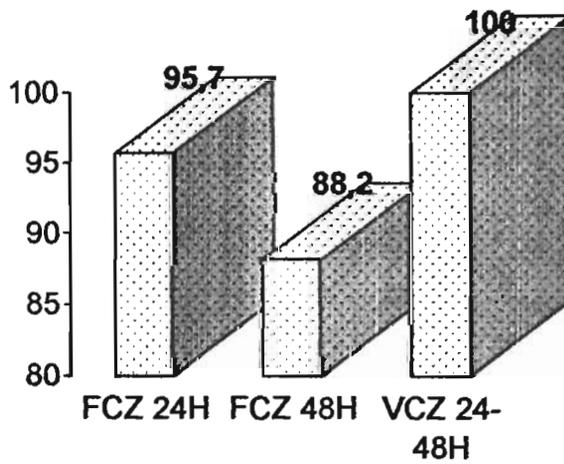
Gráfica 16. Sensibilidad (%) a FCZ y VCZ del total de los aislamientos:

a. Resistentes e Intermedios a FCZ/24 y 48 h.

b. Sensibles a FCZ y VCZ a 24-48h



a.



b.

DISCUSION

Poco se conoce acerca de la importancia etiológica de las diferentes especies levaduriformes en la colonización o infección bucal en la población mexicana. En el presente estudio fueron estudiadas las características de colonización de levaduras en una población mexicana de pacientes pediátricos y adultos con y sin VIH/SIDA, *C. albicans* fue aislada colonizando sin asociarse a candidosis en un 66.7% de la boca de niños y de un 86.5% de adultos. Otras dos especies de *Candida* fueron reconocidas, *C. glabrata* entre el 5.4 % y el 16.7 % (niños y adultos, respectivamente) y *C. tropicalis* entre el 8.1 y el 16.7 % (niños y adultos, respectivamente).

Diversos datos epidemiológicos acerca de la colonización de las especies de *Candida*, la presentación clínica de candidosis y de las alternativas para estudiar la sensibilidad antifúngica, así como los perfiles reportados en diferentes poblaciones, se han recogido y se discuten en las posteriores tablas para facilitar su análisis debido a la extensa información.

Autor y año	País	Población	Resultados	Discusión
Clayton, 1990	Tanzania	1,288 muestras bucales de personas sanas	<i>C. albicans</i> 33 % de todas las levaduras aisladas. <i>S. cerevisiae</i> 22.3 % <i>Trichosporon</i> spp. 20 %	<p>La distribución de especies de <i>Candida</i> en mexicanos sanos es muy similar a la distribución observada en Norteamérica y países europeos. En nuestro estudio fueron aisladas levaduras en un 59.9% de las personas estudiadas, de estas el 32.7% presentó lesiones producidas o asociadas a levaduras.</p> <p><i>C. albicans</i> fue aislada en un 66.7% y de un 86.5% de la boca de mexicanos adultos y niños sanos, respectivamente.</p> <p><i>C. glabrata</i> entre el 5.4 % y el 16.7 % (niños y adultos, respectivamente)</p> <p><i>C. tropicalis</i> entre el 8.1 y el 16.7 % (niños y adultos, respectivamente).</p> <p>Este alto estado de portador de especies no-<i>C. albicans</i> se relaciona a una pobre higiene bucal a la dieta, la situación geográfica, sociedad y factores personales que pueden jugar probablemente un papel importante en la ecología levaduriforme de la boca humana.</p> <p>La mayoría de las candidosis bucales son causadas por <i>C. albicans</i>; sin embargo, han sido publicados reportes de la emergencia de otras especies de <i>Candida</i>. En el presente estudio, del total de las personas, fueron aisladas en un 28.7% especies no-<i>C. albicans</i>: <i>C. glabrata</i> de 35 pacientes (18.7% de todas las levaduras aisladas), <i>C. tropicalis</i> de 11 (5.9% de todas las levaduras aisladas), <i>S. cerevisiae</i> de tres (1.8% de todas las levaduras aisladas) y <i>C. parapsilosis</i> de dos (1.1% de todas las levaduras aisladas). Se observaron nueve casos de infección o colonización por dos diferentes especies de levaduras.</p> <p>Este alto porcentaje de aislamientos no-<i>C. albicans</i> se asocio en su mayoría a la colonización bucal de personas sin infección por VIH (p < 0.05).</p>
Clayton, 1990	Papua Nueva Guinea	Poblaciones de personas sanas de dos comunidades distintas	1era población: <i>C. albicans</i> 44.2 % <i>C. guilliermondii</i> 26 % 2ª población: <i>C. albicans</i> 21.9 % <i>C. guilliermondii</i> 43.8% siendo la más prevalente.	
Contreras y cols, 1994	España	20 % de una población de niños.	<i>C. parapsilosis</i> fue la levadura predominante en la cavidad bucal, <i>C. albicans</i> colonizó cuando desarrollaban candidosis bucal.	
Hannula y cols 1999	Finlandia	Niños finlandeses.	<i>C. parapsilosis</i> 55 % <i>C. albicans</i> 36 % de cultivos de saliva positivos a levaduras	
Pedersen, 1969; Kleinegger y cols., 1996	varios	Niños	<i>C. albicans</i> (arriba del 59 % de los niños positivos a levaduras) <i>C. parapsilosis</i> fue la siguiente en frecuencia (arriba del 38 %).	
Xu y Mitchell 2003	China, Estados Unidos	mezcla racial mixta de europeo-americanos, latino-americanos, chino-americanos, y afro-americanos	<i>C. albicans</i> fue relativamente rara en China, y <i>C. parapsilosis</i> (39 % de los pacientes), <i>C. guilliermondii</i> (21 %), y <i>C. famata</i> (12 %) fueron las especies más prevalentes.	
Barchiesi, 1993, 1997; Morace, 1990	Italia	Población diversa	Describen un incremento en la frecuencia de aislamientos de especies de levaduras no- <i>C. albicans</i> en un 3 a 4 % de los aislamientos en 1988-1989 a un 16 a 18 % de los aislamientos en 1990 y 1991.	
Morace y cols. 1990	Italia	Personas con infección por VIH/SIDA	25 % de las especies levaduriformes aisladas fueron especies no- <i>C. albicans</i> .	

Autor y año	País	Población	Resultados	Discusión
Stallybrass, 1964; Drouhet y cols., 1975; Brawner y cols., 1989, 1992; Barturen y cols., 1996; Hannula y cols., 1997, 2001; Hasenclever & Mitchell, 1963; Stiller y cols., 1982	Varios	Muestras de cavidad bucal de poblaciones diversas	El serotipo A de <i>C. albicans</i> ha sido detectado significativamente con mayor frecuencia en personas de Europa (75 a 94%) y Turquía (100 %) que de los Estados Unidos (45 a 68 %).	La distribución de los dos serotipos de <i>C. albicans</i> difiere geográficamente. Nosotros observamos una clara predominancia del serotipo A (78.5% de los aislamientos de <i>C. albicans</i>) sobre el serotipo B.
Martin & Lamb, 1982; Barturen y cols., 1996; McMullan-Vogel y cols., 1999	Varios	Muestras de pacientes con candidosis bucal	El serotipo A de <i>C. albicans</i> es el más frecuentemente reconocido, este ha sido relacionado con una alta virulencia, pero este factor no ha sido determinado concluyentemente.	
Martín & Lamb, 1982	Inglaterra	Pacientes con estomatitis protésica	El serotipo A es prácticamente el único observado en pacientes con estomatitis protésica.	
Contreras y cols., 1994	España	Niños con candidosis bucal	Reportan una alta incidencia del serotipo B en niños con candidosis bucal pseudomembranosa	Sin embargo, la proporción entre el serotipo A y B es más balanceada en otros tipos clínicos de candidosis.
Brawner y cols., 1989	Estados Unidos	pacientes VIH+/SIDA	Observaron una alta incidencia del serotipo B en pacientes con queilitis angular y candidosis pseudomembranosa o eritematosa	

Autor y año	País	Población	Resultados	Discusión
CONASIDA 2003 Ramírez-Amador V y cols., 2003	México	Población general mexicana	Para el año 2003 se presentan 69 795 casos de SIDA (más de 200.000 casos estimados). Prevalencia de candidosis bucal del 31.6 %	La ecología de la boca humana puede ser alterada por diferentes factores, la infección por VIH ha sido asociada a un incremento en la colonización de levaduras y una alta predisposición a candidosis bucal.
Másia Canuto y cols. 1999, 2000	España	muestras bucales de 153 españoles adultos VIH/SIDA	Evaluaron la prevalencia de candidosis bucal y la colonización de <i>Candida</i> . 21 % de estos pacientes presentaban especies no- <i>C. albicans</i> , de las cuales la más común fue <i>C. glabrata</i> .	En nuestro estudio el 66.7% (74 pacientes) de los pacientes con VIH+/SIDA fueron colonizados o infectados por levaduras, 27% de éstos (diez pacientes) fueron colonizados por especies no- <i>C. albicans</i> . 51.7% (104 pacientes) de las personas sin infección por VIH fueron colonizadas o infectadas por levaduras, y 42.3% de estos (44 pacientes) fueron colonizados por especies no- <i>C. albicans</i> . En ambos grupos, <i>C. glabrata</i> fue la especie no- <i>C. albicans</i> más frecuente.
Blignaut y cols. 2002	Sudáfrica	Pacientes VIH/SIDA	<i>C. krusei</i> fue la segunda especie aislada más común.	No se aisló en ningún caso <i>C. dubliniensis</i> ni <i>C. krusei</i> de ninguno de los especímenes estudiados, independientemente de la edad de los pacientes o del estatus de infección por VIH.
Sullivan y cols., 1999, Gutiérrez y cols., 2002; Moran y cols., 2002	Varios	Pacientes sanos y VIH/SIDA	<i>C. dubliniensis</i> ha sido observada colonizando individuos sanos en una variedad de áreas geográficas, en pacientes VIH/SIDA preferentemente. Se ha reportado un rango de prevalencia entre el 15 y el 30 % en poblaciones mundiales VIH positivas, con un rango de prevalencia en personas sanas que se ha encontrado de un 5%. En	
Blignaut y cols., 2003	Sudáfrica	Pacientes VIH/SIDA y seronegativos	<i>C. dubliniensis</i> coloniza preferentemente personas blancas sanas (16%) y se observa un estado de portador influenciado más por raza que por la infección por VIH, con especies que no colonizan personas blancas sanas, y proporciones de pacientes blancos VIH/SIDA colonizados con <i>C. dubliniensis</i> de un 9%, donde la proporción de personas de raza negra con VIH/SIDA fue del 1.5%..	
Gottfredsson y cols. 1999	Estados Unidos	Pacientes VIH/SIDA	La presencia e intensidad del estado de portador bucal asintomático de levaduras se correlaciona significativamente más con la carga viral que con las cuentas celulares de CD4+ y sugiere la probable asociación de la supresión de la inmunidad de la mucosa bucal.	En el presente estudio, el estatus de portador de levaduras (con y sin candidosis bucal) se presentó en un 74.5% y en un 60% de adultos y niños VIH+/SIDA, respectivamente.
Kleinegger y cols. 2000	Estados Unidos	Pacientes VIH/SIDA	Plantean que la alta replicación del VIH tiene un efecto directo en la virulencia de las especies de <i>Candida</i> y que los inhibidores de proteasas del VIH pueden jugar un papel importante en la colonización de especies de <i>Candida</i> .	

Autor y año	País	Población	Resultados	Discusión
Barchiesi y cols., 2001, Diz Dios y cols., 2001	Varios	Pacientes VIH/SIDA	Observaron que el porcentaje de pacientes con aislamientos positivos a <i>C. albicans</i> fue similar en dos diferentes estudios realizados en 1992 y 2000 (59% y 63%, respectivamente), pero la prevalencia de candidosis bucal declino de un 51% a un 17%, además el porcentaje de pacientes con cuentas celulares de CD4+ <200 cels/μl fue similar. En el año 2000, seis pacientes (20%) con cuentas <200 VIH ARN copias/ml presentaron aislamientos positivos a <i>C. albicans</i> , y dos pacientes (6%) presentaron lesión bucal. Sin embargo, observaron en los pacientes con carga viral >100,000 VIH ARN copias/ml colonizados por levaduras y con candidosis bucales rangos del 20% (cuatro pacientes) y del 25% (cinco pacientes), respectivamente.	Observamos una pérdida de correlación entre las cuentas de CD4 y carga viral con la colonización de <i>Candida</i> . Sin embargo estos autores no conocieron la carga viral de los pacientes en 1992 y además la muestra es muy baja para analizar dicha correlación.
Vargas & Joly, 2002	Estados Unidos	Pacientes VIH/SIDA	Pacientes libres de síntomas con cuentas celulares de CD4+ <400 cels/μl tienen un riesgo del 50 % de progresión a SIDA avanzado en tres años. Aquellos pacientes que solo tienen candidosis bucal, tienen un 90 % de riesgo de progresión en este periodo.	Se ha sugerido que existe una fuerte asociación entre bajas cuentas de células CD4+ (< 200 cels/μl) y el desarrollo posterior de candidosis, antes de emplear un tratamiento HAART Sugerimos que el hecho de que 28 adultos VIH+/SIDA y siete niños con cuentas celulares de CD4 >200 sufrieran una mayor candidosis bucal, es debido a que algunas otras características individuales del hospedero pueden jugar un mayor papel en determinar el estatus de portador de levaduras, lo cual eventualmente, lleva a una infección sintomática, como lo propone Diz Dios y cols. (2001)
Ceballos 1996, 1998, 1999, 2000; Diz Dios 2001	España	Pacientes VIH/SIDA	Describen que la presentación clínica pseudomembranosa es la más prevalente antes y después de la introducción de la HAART	En el presente estudio, sólo el 12% de los niños VIH+/SIDA con colonización bucal sufrieron candidosis bucal, siendo la eritematosa la presentación clínica más común. Se presentaron 38 adultos VIH+/SIDA con candidosis bucal, cinco de estos pacientes presentaron una presentación clínica combinada de candidosis pseudomembranosa/eritematosa. La presentación clínica pseudomembranosa fue la más prevalente en nuestra población de adultos (97.4%). Seis presentaron el tipo eritematoso
Diz Dios, 2001	España	Pacientes VIH/SIDA bajo terapia HAART	La HAART reduce la carga viral del VIH, lo cual favorece el proceso de reconstitución inmune, donde se observa un incremento de las cuentas celulares de linfocitos T CD4+, predominantemente en la respuesta tipo-Th1 o con un aumento en el número y función de neutrófilos, lo cual puede jugar un papel importante en la eliminación de especies de <i>Candida</i>	En nuestros resultados la TARGA influencia la colonización de <i>Candida</i> spp., reduciendo la frecuencia observada de candidosis bucal. Probablemente, las proteinasas aspárticas secretorias son producidas a niveles constitutivos más bajos por cepas comensales o no infecciosas que los aislamientos de pacientes con candidosis bucal. Algunas de estas enzimas son similares a las proteasas del VIH y ha sido demostrado que juegan un papel patogénico en la invasión de las mucosas.
Cassone y cols., 1999; De Bernardis y cols., 1996	Italia	Pacientes VIH/SIDA bajo terapia HAART	Han mostrado que algunas moléculas antiretrovirales pertenecientes a la clase de los antiretrovirales inhibidores de proteasas pueden interferir en la infección por <i>Candida</i> por la inhibición de las proteinasas aspárticas secretorias fúngicas.	

Autor y año	País	Población	Resultados	Discusión
Barry, y cols., 2003	Estados Unidos	Cepas de referencia de <i>Candida</i>	Evaluaron la técnica M44-P y describieron los halos de inhibición encontrados en diferentes cepas de <i>Candida</i> : <i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019 (22 a 33 mm), <i>C. tropicalis</i> ATCC 750 (26 a 37 mm), <i>C. albicans</i> ATCC 90028 (28 a 39 mm)	Los métodos para medir la sensibilidad antifúngica aprobados por el NCCLS (NCCLS documento M27-A2) (NCCLS documento M27-A2) proveen criterios de interpretación para FCZ, ITZ y 5FC sobre especies de <i>Candida</i> . Sin embargo, la metodología de dilución en caldo resulta ser demasiado laboriosa para muchos laboratorios, lo que hace muy importante el desarrollo de métodos alternativos simples, como el método M44-P descrito recientemente.
NCCLS, 2002; Willinger, 2000-2002; Witthuhn, 1999; Davies, 1998; Davey y cols., 1998	Varios	Aislamientos clínicos de levaduras.	Este método ha sido comparado con el método estandarizado descrito por el Comité Nacional para Estándares de Laboratorio (The National Committee for Clinical Laboratory Standards) por diferentes autores	En el presente estudio, hemos probado la sensibilidad antifúngica usando un nuevo sistema comercial (Fungitest), este ensayo es de fácil lectura porque tiene un punto promedio de referencia, mostrando una alta a excelente correlación de resultados cualitativos (97% de concordancia para FCZ y 84% concordancia para ITZ).
Meis y cols. 2000, Barry y cols. 2002 y Pfaller y cols. 2003a	Varios	Aislamientos clínicos de levaduras.	Los estudios han validado el método de difusión de disco (NCCLS documento M44-P) como un método útil para determinar in vitro la sensibilidad de especies de <i>Candida</i> al FCZ y VCZ	Hemos probado también la sensibilidad para FCZ y VCZ usando el método descrito por el NCCLS M44-P. Nuestros resultados (Estudio III- M44-P) tienen una buena correlación con los obtenidos en el estudio II (Sánchez-Vargas y cols. 2004) donde utilizamos el sistema Fungitest (Bio-Rad, Paris, Francia) donde observamos un bajo porcentaje de resistencia al FCZ (2.2 %).
Pfaller y cols., 2003b; Morace y cols., 2002.	Varios	Aislamientos clínicos de levaduras.	La difusión de disco es exacta y precisa, y los resultados han mostrado una buena correlación con los métodos de referencia de dilución en caldo	
Martins 1998, 1998; Barchiesi y cols., 1998; Witthuhn, 1999; Wroblewska y cols., 2002; Sanglard & Odds, 2002	Varios	Pacientes con y sin VIH/SIDA	La presencia de resistencia antifúngica en la década pasada ha sido relacionada con resistencia de antifúngicos triazólicos, especialmente FCZ, ITZ, y KTZ, particularmente en pacientes VIH+/SIDA con candidosis bucal	En nuestro estudio del total de los aislamientos, el 18.7% de las levaduras fueron resistentes al menos a uno o más agentes antifúngicos azólicos, siendo KTZ y ITZ los menos activos. La mayoría de los aislamientos resistentes fueron de <i>C. glabrata</i> de pacientes sin infección por VIH o de <i>C. albicans</i> de pacientes VIH+/SIDA. Las personas no infectadas por VIH exhibieron mucho mayor diversidad de especies levaduriformes, pero los perfiles de sensibilidad antifúngica no fueron diferentes de los aislamientos de pacientes VIH+/SIDA. La sensibilidad de la mayoría de las especies en este estudio contra los antifúngicos mencionados, no difiere de datos previamente publicados correspondientes a especies de América de un programa SENTRY.
				Sugerimos que se deberán desarrollar estrategias alternativas de tratamiento en pacientes pediátricos.

Autor y año	País	Población	Resultados	Discusión
Martin y cols., 1997 & cols., 1998; Barchiesi y cols., 1998; Withuhn y cols., 1999; Meiss y cols., 2000; Diekema y cols., 1999; Pfaller y cols., 1998	Varios	aislamientos de <i>Candida</i> de pacientes VIH+/SIDA Programa SENTRY	Se ha descrito en muchos países la presencia de aislamientos de <i>C. albicans</i> resistentes al FCZ provenientes de pacientes VIH+/SIDA. La resistencia de <i>C. albicans</i> en los Estados Unidos, y el resto de América para el ITZ fue del 0.6 al 1.5% y la resistencia al FCZ fue mucho menor (0.6 a 0.9%).	En el presente estudio, de todos los aislamientos de <i>C. albicans</i> , la resistencia al ITZ fue del 8.1%, en un rango que va de ausencia de resistencia en pacientes VIH+/SIDA con candidosis bucal a un 12.9% en pacientes colonizados (la mayoría personas sanas y pacientes VIH+/SIDA). Sin embargo, casi un tercio de los aislamientos de pacientes VIH+/SIDA con candidosis presentaron sensibilidad intermedia por Fungitest. La resistencia al FCZ fue muy baja: 2.8% de los aislamientos de personas colonizadas fueron resistentes y todos los aislamientos de pacientes VIH+/SIDA sin candidosis fueron susceptibles. Los aislamientos intermedios al FCZ representaron el 5.9% de todos los aislamientos de <i>C. albicans</i> . No se observaron diferencias entre alguno de los serotipos de <i>C. albicans</i> en la sensibilidad a los azoles. No observamos resistencia a AMB en algún aislamiento de <i>C. albicans</i> y sólo el 1,5% de los aislamientos mostraron una sensibilidad intermedia a AMB. Los aislamientos de <i>C. parapsilosis</i> fueron susceptibles a ITZ y FCZ, como lo encontrado en aislamientos del programa SENTRY. Los aislamientos de <i>C. tropicalis</i> mostraron patrones diferentes de sensibilidad, dos fueron resistentes (18.2%) a ITZ y 1 a FCZ (9.1%). La emergencia de la resistencia al FCZ en aislamientos de <i>C. albicans</i> en este sentido ha sido alarmante.
Blignaut y cols. 2002	Sudáfrica	aislamientos de <i>Candida</i> de pacientes VIH+/SIDA	0.4% de los aislamientos de <i>C. albicans</i> probados fueron resistentes al ITZ y prácticamente no observaron resistencia al FCZ, 0.4 y 0%. Sin embargo, el 8.4% de los aislamientos de <i>C. albicans</i> probados en ese estudio fueron resistentes a AMB y un 2.3% a 5FC.	
Sanglard & Odds 2002, Barchiesi y cols., 2002	Estados Unidos	portadores de levaduras bucales	El uso común de FCZ e ITC para el tratamiento de la candidosis bucal se ha asociado con la aparición de aislamientos resistentes-azólicos, en las décadas pasadas diversos estudios han indicado una prevalencia de <i>C. albicans</i> resistentes al FCZ del 12 al 19 %	
Blignaut y cols., 2002, Diekema y cols., 1999, Pfaller y cols., 1998, 1999 2001-2004	Varios	pacientes VIH+/SIDA	Hoy en día la importancia de la resistencia al FCZ ha disminuido ya que después de la introducción de la HAART independientemente del origen clínico de los aislamientos, la prevalencia de aislamientos de <i>C. albicans</i> resistentes al FCZ es muy baja (~ 0.5-1 %)	
Pfaller, y cols., 2002	Estados Unidos	8803 aislamientos clínicos de <i>Candida</i>	Probaron la actividad in vitro al FCZ con el método de microdilución, encontrando en <i>Candida</i> sp un 95% sensibles, el 2% intermedios y el 3% resistentes, para <i>C. krusei</i> solo el 5% fueron sensibles, el 67% fueron intermedios y el 28% resistentes.	
Barchiesi y cols. 2002	Italia	portadores de levaduras bucales VIH+/SIDA	Encontraron que el 93% de los aislamientos fueron susceptibles <i>in vitro</i> al FCZ y el restante 7% fue sensible dosis-dependiente	
Martins y cols. 1998, 1999	Inglaterra Estados Unidos	Pacientes VIH+/SIDA	Antes del advenimiento del uso de la HAART, encontraron que la prevalencia de portadores de <i>Candida</i> spp. resistentes al FCZ fue de 22% en pacientes norteamericanos con candidosis bucal y en un 14% en pacientes colonizados asintomáticos.	
Barchiesi, y cols., 2002	Italia	102 pacientes con terapia antiviral altamente activa	En un estudio prospectivo en pacientes VIH se aislaron levaduras de <i>Candida</i> en 68 pacientes; 60 <i>C. albicans</i> , 3 <i>C. glabrata</i> y 2 <i>C. krusei</i> , 3 mixtas <i>C. albicans-C. krusei</i> ; encontrando un 93% sensibles al FCZ con una CMI \leq 8,0 mg/L.	
Sanglard & Odds, 2002	Suiza	portadores de levaduras bucales VIH+/SIDA	Observaron una prevalencia de aislamientos de <i>C. albicans</i> resistentes al FCZ en personas VIH+/SIDA del 12 al 19%. Observaron que después de la introducción de la HAART se ha dado una disminución de los niveles de candidosis y colonización bucal por <i>Candida</i> spp., así como una tendencia hacia la disminución en la frecuencia de resistencia al FCZ <i>in vitro</i> .	
Lavardiere, y cols., 2002 y cols	Francia	Aislamientos clínicos de <i>Candida</i>	Reportan una CMI ₅₀ de la caspofungina de 0.19 a 0.5 mg/L, adicionalmente lo compara con FCZ, ITZ y AmB utilizando el método E-test y microdilución, observando buena correlación entre ambos métodos y mayor actividad de la caspofungina.	
Muller, y cols., 2000	Alemania	pacientes pediátricos con candidosis bucal	Demostrarán resistencia a 3 azoles; voriconazol, FCZ e ITZ en,	
Pelletier, y cols., 2000	Francia	pacientes pediátricos con candidosis bucal	Reportan el desarrollo de resistencia clínica al clotrimazol en 40% (8 de 15) de los aislamientos estudiados de <i>C. albicans</i>	

Autor y año	País	Población	Resultados	Discusión
Safdar y cols., 2002	Estados Unidos	pacientes VIH+/SIDA	Sobre todo los niveles de resistencia de aislamientos de <i>C. glabrata</i> a FCZ (10.7%) e ITZ (15.2%) observados por Safdar y cols. (2002) en pacientes VIH+/SIDA de una ciudad de Estados Unidos fueron comparables.	En el presente estudio <i>C. glabrata</i> fue la segunda especie más comúnmente aislada (18.7% de todos los aislamientos). La más notable diferencia entre los aislamientos de <i>C. glabrata</i> de este estudio y los aislamientos de un programa SENTRY reportado es que solo el 20% de los aislamientos mexicanos fueron resistentes a ITZ, comparado con un 32.8 a un 34.9% de los aislamientos de este programa SENTRY. La resistencia fue alta (33.3%) en aislamientos de personas colonizadas. Así mismo de los 35 aislamientos de <i>C. glabrata</i> , el 5.7% fueron resistentes a FCZ. Adicionalmente, las infecciones sistémicas causadas por <i>C. glabrata</i> frecuentemente se deben a la microbiota endógena del hospedero, principalmente en los tractos oro-intestinal y genito-urinario, esto es importante para ensayos de perfiles de sensibilidad antifúngica de muestras colonizadas por <i>C. glabrata</i> y su asociación con enfermedades sistémicas. Estas especies tienen la habilidad para desarrollar resistencia a fármacos azólicos y para expandirla por la presión selectiva causada por el uso común de FCZ e ITZ. La habilidad de <i>C. glabrata</i> para adquirir una rápida resistencia es debida a su naturaleza haploide y a rápidas mutaciones, seguidas de una exposición a agentes antifúngicos triazólicos.
Pfaller y cols., 2003	Estados Unidos	Aislamientos clínicos de <i>Candida</i>	Sin embargo, estas son variaciones importantes en los niveles de sensibilidad antifúngica a aislamientos de <i>C. glabrata</i> de pacientes de diferentes edades, áreas geográficas, al menos en aislamientos de sangre	
Martins y cols., 1997 & 1998; Barchiesi y cols., 1998; Witthuhn y cols., 1999; Meiss y cols., 2000; Diekema y cols., 1999; Pfaller y cols., 1998	Varios	Aislamientos clínicos de <i>Candida</i> de pacientes VIH+/SIDA	Esta resistencia a FCZ es similar a la observada en el estudio SENTRY en aislamientos de Estados Unidos, Canadá y el resto de América, donde encontraron de un 5.7 a un 8.7% de resistencia a este triazol.	
Blignaut, y cols., 2002; Blignaut, y cols., 2003	Sudáfrica	589 aislamientos de pacientes VIH	Se demostró que el 100% fue sensible al FCZ, lo que comprueba que una baja exposición a los antifúngicos modifica las condiciones de sensibilidad.	
Ruhnke, y cols., 2000	Alemania	paciente con episodios de candidosis esofágica	Interesante seguimiento de 4 años en un paciente tratado con FCZ, después de su mejoría se identificó una persistente colonización de <i>C. albicans</i> y <i>C. dubliniensis</i> y a los 3 años se desarrolló resistencia al FCZ, después de un periodo de colonización asintomática.	De manera similar nuestros resultados indican un muy bajo porcentaje de aislamientos resistentes al FCZ, tanto en aquellos que se encontraban colonizando como en los asociados a candidosis. No encontramos aislamientos que correspondan a la especie <i>C. dubliniensis</i> ni tampoco <i>C. krusei</i>
Moran, y cols., 1997	Estados Unidos	Aislamientos clínicos de <i>Candida</i>	Otras especies recientemente reportadas como <i>C. dubliniensis</i> se ha demostrado que son inherentemente sensibles a drogas antifúngicas, la resistencia más reportada es al FCZ en aislamientos clínicos inducida por una exposición previa y prolongada a la droga.	
Berrouane, y cols., 1996	Estados Unidos	Aislamientos clínicos de <i>Candida</i>	Demonstraron que existe una diversidad genética de <i>C. krusei</i> asociada a la disminución de la sensibilidad a agentes antifúngicos.	

Autor y año	País	Población	Resultados	Discusión
Hazen y cols. 2003	Varios	18,500 aislamientos de levaduras provenientes de 77 instituciones en 30 países.	Estudio de sensibilidad al FCZ y VCZ utilizando el método descrito por el NCCLS de difusión de disco (método M44-P) en más de La sensibilidad de los aislamientos de <i>C. albicans</i> al FCZ fue virtualmente igual en un periodo de tiempo, un 99.2% en 1997 a un 99% en 2001; la respuesta de <i>C. glabrata</i> al FCZ fue también igual, un 81.5% en 1997 a un 81.7% en 2001. El porcentaje de aislamientos susceptibles de <i>C. parapsilosis</i> disminuyó significativamente, un 98% en 1997 a un 96% en 2001; y el porcentaje de aislamientos susceptibles de <i>C. tropicalis</i> se incremento significativamente, un 95.7% en 1997 a un 96.9% en 2001.	Del total de los aislamientos probados en nuestro estudio, la resistencia al FCZ fue baja (1.6 %) a 24 h de lectura, que es el tiempo recomendado por el NCCLS en el documento M44-P. Todos los aislamientos resistentes al FCZ correspondieron a <i>C. albicans</i> . Los aislamientos con sensibilidad intermedia al FCZ representaron el 2.7 % de todas los aislamientos probados, correspondieron a las especies <i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> y <i>C. tropicalis</i> . Las lecturas a las 48 h mostraron un claro incremento en la resistencia y en los aislamientos con sensibilidad intermedia, se observaron siete aislamientos de <i>C. albicans</i> resistentes, y seis de <i>C. albicans</i> , cinco de <i>C. glabrata</i> , y dos de <i>C. tropicalis</i> fueron susceptibles intermedios. De manera similar a los reportes del programa SENTRY, en el presente estudio, los aislamientos de <i>C. parapsilosis</i> fueron susceptibles tanto al FCZ como al VCZ. Los aislamientos de <i>C. tropicalis</i> mostraron patrones diferentes de sensibilidad, ya que encontramos dos aislamientos con sensibilidad intermedia al FCZ (18.2 %).
Cuenca-Estrella, y cols., 1999	España	Aislamientos clínicos de <i>Candida</i>	Sugieren que el VCZ es el tratamiento efectivo contra candidosis esofágica refractaria al FCZ en pacientes VIH.	
Marco, y cols., 1998	Estados Unidos	394 aislamientos de sangre	Determinaron que el voriconazol es más activo que AmB y 5FC.	La sensibilidad de la mayoría de las especies en este estudio contra el VCZ, no difiere de datos previamente publicados (Chávez, 1999; Espinel-Ingroff y cols., 2001; Diekema y cols. 1999; Pfaller y cols. 1998, 2001-2004).
Pfaller, y cols., 2003	Estados Unidos	314 aislamientos de <i>Candida</i> provenientes de sangre	Reportan que el 94% fueron sensibles al posaconazol y voriconazol; así mismo reportan 13 aislamientos resistentes: para AmB y FCZ resistencias en aislamientos de <i>C. krusei</i> , <i>C. lusitanae</i> , <i>C. guilliermondii</i> , <i>C. inconspicua</i> , <i>C. sake</i> y resistentes solo a AmB: <i>C. kefyr</i> y <i>C. rugosa</i> .	
Chavez, y cols., 1999	España	Aislamientos clínicos de <i>Candida</i>	Reportan las CM ₅₀ para diferentes antifúngicos: voriconazol (0.12 mg/L); LY303366 (0.25 mg/L); AmB (0.5 mg/L); FCZ (≥ 64 mg/L); ITZ (4 mg/L); 5FC (1 mg/L).	
Quindós y cols., 1994	España	Aislamientos clínicos de <i>Candida</i>	Reportan una alta resistencia previamente observada en otros estudios	Nuestros resultados contrastan ya que encontramos ausencia de resistencia de los aislamientos del serotipo B a 5FC
Paniagua y cols. 2002	México	80 aislamientos bucales de personas no infectadas por el VIH	Sensibilidad de <i>C. albicans</i> a 5FC, MCZ y AMB; encontraron que el 65% de los aislamientos fueron susceptibles a 5FC y 35% fueron susceptibles intermedios. Todos estos aislamientos fueron susceptibles a AMB pero a MCZ solo el 6% fueron susceptibles y un 49% susceptibles intermedios.	Esta alta resistencia a estos azoles (45%) no fue observada en nuestro estudio, donde solo el 0.7% de los aislamientos fueron resistentes y un 10.3% susceptibles intermedios a MCZ.
Blignaut 2002, Diekema 1999, Pfaller 1998, 2000-2004	Varios	Aislamientos clínicos de <i>Candida</i>	En lo que respecta a los aislamientos no- <i>Candida</i> , <i>S. cerevisiae</i> fue la única especie aislada y presentó sensibilidad tanto para VCZ como para FCZ y para todos los antifúngicos probados. Estos resultados coinciden con datos previamente publicados realizados en aislamientos de <i>S. cerevisiae</i> en América y África	
La sensibilidad de aislamientos mexicanos no difiere considerablemente de la de aislamientos obtenidos de Estados Unidos, Canadá, el resto de América y Europa, aunque podemos decir que los aislamientos mexicanos muestran mayor sensibilidad.				

En este estudio se ha probado la sensibilidad antifúngica usando un nuevo sistema comercial (Fungitest), este ensayo es de fácil lectura porque tiene un punto promedio de referencia. Este método ha sido comparado con el método estandarizado descrito por el Comité Nacional para Estándares de Laboratorio (The National Committee for Clinical Laboratory Standards) por diferentes autores mostrando una alta a excelente correlación de resultados cualitativos (97% de concordancia para FCZ y 84% concordancia para ITZ). Adicionalmente hemos probado la sensibilidad para FCZ y VCZ usando el método descrito por el NCCLS M44-P.

En Europa, Norteamérica y Australia, *C. albicans* usualmente se presenta de un 60 a un 80 % de las levaduras aisladas de la boca de personas sanas. Sin embargo, la microbiota bucal varía entre países y *C. albicans* no siempre se presenta por arriba del 50%. Se ha relacionado un alto estado de portador de especies no-*C. albicans* a una pobre higiene bucal pero además se ha mencionado ampliamente que la dieta, la situación geográfica, sociedad y factores personales pueden jugar muy probablemente un papel importante en la ecología levaduriforme de la boca humana. La distribución y frecuencia de especies de *Candida* en mexicanos sanos es muy similar a la distribución observada en Norteamérica y países europeos.

La ecología de la boca humana puede ser alterada por diferentes factores, de manera muy importante la infección por VIH ha sido asociada a un incremento en la colonización de levaduras y a una alta predisposición a candidosis bucal.

Después de haberse descrito la infección por VIH y su patogenia se ha considerado a la candidosis como un importante predictor clínico del VIH/SIDA. Sin embargo de manera interesante los pacientes VIH+ libres de síntomas con cuentas celulares de CD4+ <400 cels/ μ l tienen un riesgo del 50 % de progresión a SIDA avanzado en tres

años. En cambio, aquellos pacientes que solo tienen candidosis bucal, tienen un 90% de riesgo de progresión en este periodo, existiendo una fuerte asociación entre bajas cuentas de células CD4+ (< 200 cels/ μ l) y el desarrollo posterior de candidosis, antes de emplear un tratamiento TARGA (Vargas & Joly, 2002).

En el contexto del VIH en nuestro estudio no encontramos una correlación entre las cuentas de CD4 o la carga viral, tanto con la colonización como la frecuencia de candidosis, pero si observamos que la TARGA reduce la frecuencia de candidosis en estos pacientes.

La TARGA reduce la carga viral del VIH, lo cual favorece el proceso de reconstitución inmune, lo que permite un incremento de las cuentas celulares de linfocitos T CD4+, predominantemente en la respuesta tipo-Th1 o con un aumento en el número y función de neutrófilos, lo cual puede jugar un papel importante en la eliminación de especies de *Candida*

La presencia de resistencia antifúngica en la década pasada ha sido relacionada con resistencia de antifúngicos triazólicos, especialmente FCZ, ITZ, y KTZ, particularmente en pacientes VIH+/SIDA con candidosis bucal. La emergencia de la resistencia al FCZ en aislamientos de *C. albicans* en este sentido ha sido alarmante.

Los métodos para medir la sensibilidad antifúngica aprobados por el NCCLS (NCCLS documento M27-A2) (NCCLS documento M27-A2) proveen criterios de interpretación para FCZ, ITZ y 5FC sobre especies de *Candida*. Sin embargo, la metodología de dilución en caldo puede ser demasiado laboriosa para muchos laboratorios, lo que hace muy importante el desarrollo de métodos alternativos simples. Algunos estudios han validado el método de difusión de disco (NCCLS

documento M44-P) recientemente publicado como un método útil para determinar la sensibilidad in vitro de especies de *Candida* al FCZ y VCZ. La difusión de disco es exacta y precisa, y los resultados han mostrado una buena correlación con los métodos de referencia de dilución en caldo

Uno de los objetivos recientes en la investigación de la sensibilidad a los antifúngicos se ha dirigido a medir las dosis mínimas inhibitorias en diversos fármacos, utilizando nuevos test, comparando métodos y/o efectividad entre dos o más antifúngicos.

En este estudio las personas no infectadas por VIH exhibieron mucho mayor diversidad de especies levaduriformes, pero los perfiles de sensibilidad antifúngica no fueron diferentes de los aislamientos de pacientes VIH+/SIDA. La sensibilidad de la mayoría de las especies en este estudio contra los antifúngicos mencionados, no difiere de datos previamente publicados correspondientes a especies de América de un programás multicéntricos.

En este estudio la resistencia al FCZ fue muy baja: 2.8% de los aislamientos de personas colonizadas fueron resistentes y todos los aislamientos de pacientes VIH+/SIDA sin candidosis fueron susceptibles.

La sensibilidad de la mayoría de las especies en este estudio contra el VCZ, no difiere de datos previamente publicados. Sin embargo del total de los aislamientos probados la resistencia al FCZ fue baja (1.6 %) a 24 h de lectura, que es el tiempo recomendado por el NCCLS en el documento M44-P. Todos los aislamientos resistentes al FCZ correspondieron a *C. albicans*. Los aislamientos con sensibilidad intermedia al FCZ representaron el 2.7 % de todas los aislamientos probados, correspondieron a las especies *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. tropicalis*.

La sensibilidad de aislamientos mexicanos no difiere considerablemente de la de aislamientos obtenidos de Estados Unidos, Canadá, el resto de América y Europa, aunque podemos decir que los aislamientos mexicanos muestran mayores niveles de sensibilidad. Esto plantea de manera interesante dar seguimiento a la distribución de las especies y el perfil de sensibilidad antifúngica en aislamientos levaduriformes de pacientes mexicanos VIH+/SIDA, realizando análisis periódicos que son críticos para determinar la rápida evolución de la sensibilidad de especies de *Candida*, especialmente en centros de salud para pacientes de riesgo. Estudios colaborativos han indicado la importancia de conocer las variaciones geográficas en la distribución de las especies de *Candida* y las diferencias en la prevalencia de aislamientos resistentes-azólicos. Centros de atención a pacientes VIH+/SIDA y también otros pacientes con neoplasias malignas pueden tener una alta frecuencia de colonización por especies no -*C. albicans* resistentes-azólicos. La significativa resistencia cruzada entre agentes antifúngicos azólicos puede ser una causa adicional a investigar.

Las variaciones que encontramos en los niveles de sensibilidad antifúngica a aislamientos de *C. glabrata* se puede deber a que los pacientes son de diferentes edades, áreas geográficas, así como la procedencia del espécimen clínico, ya que no proceden de aislamientos de sangre (Pfaller y cols., 2003). Adicionalmente, las infecciones sistémicas causadas por *C. glabrata* frecuentemente se deben a la microbiota endógena del hospedero, principalmente en los tractos oro-intestinal y genito-urinario, esto es importante para ensayos de perfiles de sensibilidad antifúngica de muestras colonizadas por *C. glabrata* y su asociación con enfermedades sistémicas. Estas especies tienen la habilidad para desarrollar resistencia a fármacos azólicos y para expandirla por la presión selectiva causada

por el uso común de FCZ e ITZ. La habilidad de *C. glabrata* para adquirir una rápida resistencia es debida a su naturaleza haploide y a rápidas mutaciones, seguidas de una exposición a agentes antifúngicos triazólicos.

CONCLUSIONES

Los datos de este estudio revelan importantes características de la colonización de levaduras en la cavidad bucal de pacientes con y sin VIH+/SIDA en una población mexicana.

En lo que respecta a pacientes VIH/SIDA observamos que el estatus de portador de levaduras, no fue asociado con el número de células CD4 o la carga viral.

Sin embargo, la TARGA influencia la colonización de *Candida* spp., reduciendo la frecuencia observada de candidosis bucal.

Fueron aisladas levaduras en un 59.9% de las personas estudiadas, de estas el 32.7% presentó lesiones producidas o asociadas a levaduras. *C. albicans* fue la especie más frecuente (63.7% de los aislamientos), con una clara predominancia del serotipo A (78.5% de los aislamientos de *C. albicans*) sobre el serotipo B.

Del total de las personas, fueron aisladas en un 28.7% especies no-*C. albicans*: *C. glabrata* de 35 pacientes (18.7% de todas las levaduras aisladas), *C. tropicalis* de 11 (5.9% de todas las levaduras aisladas), *S. cerevisiae* de tres (1.6% de todas las levaduras aisladas) y *C. parapsilosis* de dos (1.1% de todas las levaduras aisladas).

Es interesante señalar la alta prevalencia de *C. glabrata* asociada a la presencia de estomatitis protésica.

Del total de los aislamientos, el 18.7% de las levaduras fueron resistentes al menos a uno o más agentes antifúngicos azólicos, siendo KTZ y ITZ los menos activos.

C. glabrata fue la segunda especie más comúnmente aislada (18.7% de todos los aislamientos), el 20% de los aislamientos fueron resistentes a ITZ, La resistencia fue

alta (33.3%) en aislamientos de personas colonizadas. Así mismo de los 35 aislamientos de *C. glabrata*, el 5.7% fueron resistentes a FCZ.

La resistencia al FCZ fue muy baja, la mayoría de los pacientes presentaron muestras susceptibles a FCZ.

El VCZ mostró una alta efectividad contra los aislamientos clínicos probados en nuestro estudio.

La ausencia de resistencia de los aislamientos del serotipo B a 5FC contrasta con una alta resistencia previamente observada en otros estudios

Nuestros resultados (Estudio V M44-P) tienen una buena correlación con los obtenidos en el estudio II y III (Sánchez-Vargas y cols. 2004) donde utilizamos el sistema Fungitest (Bio-Rad, Paris, Francia) donde observamos un bajo porcentaje de resistencia al FCZ (2.2 %).

Adicionalmente hemos observado que a pesar de no existir previa exposición a los agentes antifúngicos, se observan muy pocas diferencias en la sensibilidad a antifúngicos entre aislamientos provenientes de México y de los que provienen de Estados Unidos, Latinoamérica, Europa y África.

PUBLICACIONES ORIGINALES

El trabajo de investigación que ha sido presentado en esta tesis, ha generado las siguientes publicaciones, las cuales se basan de manera directa en su totalidad o parcialmente en los resultados obtenidos.

- I. Gaitán-Cepeda L, Mbucalés J, **Sánchez-Vargas L**, Aquino-García S, Fragoso-Ríos R, Cuairán-Ruidíaz V, and Avila C. **Prevalence of Bucal lesions in Mexican Children with perinatally Acquired HIV: Association with**

Immunologic Status, viral load and gender. AIDS Patient care and STDs. 2002; 16(4): 151-156.

- II. **Sánchez-Vargas LO, Ortiz-López NG, Villar M, Moragues MD, Aguirre JM, Cashat-Cruz M, Lopez-Ribot JL, Gaitán-Cepeda LA, Quindós G. Oral *Candida* isolates colonizing or infecting Mexican HIV-infected and healthy persons.** J Clin Microbiol 2005; 43 (8): 4159-4162

- III. **Sánchez-Vargas LO, Ortiz-López NG, Villar M, Moragues MD, Aguirre JM, Cashat-Cruz M, Lopez-Ribot JL, Gaitán-Cepeda LA, Quindós G. Point prevalence, microbiology and antifungal susceptibility patterns of oral *Candida* isolates colonizing or infecting Mexican HIV-infected and healthy persons.** Rev Iberoam Micol 2005; 22: 83-92

- IV. **Baena-Monroy T, Moreno-Maldonado V, Franco-Martínez F, Aldape-Barrios B, Quindós G and Sánchez-Vargas LO. Colonización por *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus mutans* en pacientes portadores de prótesis dentales. /“*Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus mutans* colonization in patients wearing dental prosthesis”. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2005; 10: E27-E39.**

- V. **Sánchez-Vargas LO, Villar M, Carrillo-Muñoz AJ, Aguirre JM, Lopez-Ribot JL, Gaitán-Cepeda LA, Quindós G. In vitro activity of voriconazol and fluconazole against 187 Mexican bucal yeast isolates from HIV-infected patients and healthy persons.** 2005. Enviada a J Antimicrobial Chemother.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aguirre J. Candidosis bucales. Rev Iberoam Micol 2002; 19 17-21.
2. An update of the classification and diagnostic criteria of bucal lesions in HIV infection. EEC-clearinghouse on Bucal Problems Related to HIV Infection and WHO Collaborating Centre on Bucal Manifestations of the Human Immunodeficiency Virus. J Bucal Pathol Med 1991; 20 (3): 97-100.
3. Arenas. Micología Médica Ilustrada. Ed. McGraw Hill Interamericana. 1993.
4. Arendrup M, Lundgren B, Jensen IM, Hansen BS, Frimodt-Moller N. Comparison of Etest and a tablet diffusion test with the NCCLS broth microdilution method for fluconazole and amphotericin B susceptibility testing of *Candida* isolates. J Antimicrob Chemother 2001; 47 (5): 521-6.
5. Arevalo MP, Carrillo-Munoz AJ, Salgado J, Cardenes D, Brio S, Quindos G, Espinel-Ingroff A. Antifungal activity of the echinocandin anidulafungin (VER002, LY-303366) against yeast pathogens: a comparative study with M27-A microdilution method. J Antimicrob Chemother 2003; 51 (1): 163-6.
6. Axell T, Samaranayake LP, Reichart PA, Olsen L. A proposal for reclassification of bucal candidosis. Bucal Surg Bucal Med Bucal Pathol Bucal Radiol Endod 1997; 84 (2): 111-2.
7. Bachmann SP, VandeWalle K, Ramage G, Patterson TF, Wickes BL, Graybill JR, Lopez-Ribot JL. In vitro activity of caspofungin against *Candida albicans* biofilms. Antimicrob Agents Chemother 2002; 46 (11): 3591-6.
8. Barchiesi F, Arzeni D, Del Prete MS, Sinicco A, Falconi Di Francesco L, Pasticci MB, Lamura L, Nuzzo MM, Burzacchini F, Coppola S, Chiodo F, Scalise G. Fluconazole susceptibility and strain variation of *Candida albicans* isolates from HIV-infected patients with oropharyngeal candidosis. J Antimicrob Chemother 1998; 41: 541-548.
9. Barchiesi F, Del Poeta M, Morbiducci V, Ancarani F, Scalise G. Turbidimetric and visual criteria for determining the in vitro activity of six antifungal agents against *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans*. Mycopathologia 1993; 124: 19-25.
10. Barchiesi F, Falconi Di Francesco L, Scalise G. In vitro activities of terbinafine in combination with fluconazole and itraconazole against isolates of *Candida albicans* with reduced susceptibility to azoles. Antimicrob Agents Chemother 1997; 41 (8): 1812-4.
11. Barchiesi F, Maracci M, Radi B, Arzeni D, Baldassarri I, Giacometti A, Scalise G. Point prevalence, microbiology and fluconazole susceptibility patterns of yeast isolates colonizing the bucal cavities of HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral therapy. J Antimicrob Chemother 2002; 50 (6): 999-1002.
12. Barchiesi F, Maracci M, Radi B, Arzeni D, Baldassarri I, Giacometti A, Giorgio Scalise G. Point prevalence, microbiology and fluconazole susceptibility patterns of yeast isolates colonizing the bucal cavities of HIV-infected patients in the era of highly active antiretroviral therapy. J Antimicrob Chemother 2002; 50: 999-1002.
13. Barchiesi F, Tortorano AM, Di Francesco LF, Cogliati M, Scalise G, Viviani MA. In-vitro activity of five antifungal agents against uncommon clinical isolates of *Candida* spp. J Antimicrob Chemother 1999; 43 (2): 295-9.

14. Barone R, Ficarra G, Gaglioti D, Orsi A, Mazzotta F. Prevalence of bucal lesions among HIV-infected intravenous drug abusers and other risk groups. *Bucal Surg Bucal Med Bucal Pathol* 1990; 69 (2): 169-73.
15. Barry A, Bille J, Brown S, Ellis D, Meis J, Pfaller M, Rennie R, Rinaldi M, Rogers T, Traczewski M. Quality Control Limits for Fluconazole Disk Susceptibility Tests on Mueller-Hinton Agar with Glucose and Methylene Blue. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41 (7): 3410-2.
16. Barry A, Brown S, Traczewski M. Broth medium for microdilution susceptibility tests of fluconazole and voriconazole. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2002; 21 (5): 407-10. Epub 2002 May 7.
17. Barry AL, Brown SD. Fluconazole disk diffusion procedure for determining susceptibility of *Candida* species. *J Clin Microbiol* 1996; 34 (9): 2154-7.
18. Barturen B, Bikandi J, San Millán R, Moragues D, Regúlez P, Quindós G, Pontón J. Variability in expression of antigens responsible for serotype specificity in *Candida albicans*. *Microbiology* 1995; 141: 1535-1543.
19. Barturen B, Quindós G, San Millán R, Lipperheide V, Tellaetxe M, Elósegui R, Ribacoba L, Contreras I, Aguirre JM, Pontón J. Distribución de los serotipos de *Candida albicans* en aislamientos clínicos de personas inmunocompetentes e inmunosuprimidas. *Rev Iberoam Micol* 1996; 13: 10-13.
20. Bascones A, Serrano C, Campo J. [Bucal manifestations of HIV infection]. *Med Clin (Barc)* 2003; 120 (11): 426-34.
21. Berrouane YF, Hollis RJ, Pfaller MA. Strain variation among and antifungal susceptibilities of isolates of *Candida krusei*. *J Clin Microbiol* 1996; 34 (7): 1856-8.
22. Bikandi J, San Millán R, Moragues MD, Cebas G, Coleman DC, Quindós G, Pontón J. Rapid identification of *Candida dubliniensis* by indirect immunofluorescence based on differential localization of antigens on *C. dubliniensis* blastospores and *Candida albicans* germ tubes. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 2428-2433.
23. Blignaut E, Messer S, Hollis RJ, Pfaller MA. Antifungal susceptibility of South African bucal yeast isolates from HIV/AIDS patients and healthy individuals. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 44: 169-174.
24. Blignaut E, Pujol C, Joly S, Soll DR. Racial Distribution of *Candida dubliniensis* Colonization among South Africans. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41 (5): 1838-42.
25. Bonifaz Alejandro. *Micología Médica Básica*. Ed Francisco Méndez Cervantes. México DF. 1991
26. Brawner DL, Anderson GL, Yuen KY. Serotype prevalence of *Candida albicans* from blood culture isolates. *J Clin Microbiol* 1992; 30: 149-153.
27. Brawner DL, Cutler JE. Bucal *Candida albicans* isolates from non-hospitalized normal carriers, immunocompetent hospitalized patients and immunocompromised patients with or without acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Microbiol* 1989; 27: 1335-1341.
28. Budtz-Jorgensen E. Histopathology, immunology, and serology of bucal yeast infections. Diagnosis of bucal candidosis. *Acta Odontol Scand* 1990; 48 (1): 37-43.
29. Calderone Richard A. *Candida and Candidosis*. ASM Press. American Society for Mycobiology. Washington, DC. 2002.

30. Calvo MR, Tomás JG, Ruesca RB. Valoración in vitro de la sensibilidad a antimicóticos. Rev Iberoam Micol 1996; 13 ((Supl. 1)): S60-S3.
31. Carrillo-Muñoz A, Abarca-Salat L, Quindós-Andres G. Métodos de estudio de la sensibilidad a los antifúngicos. I Factores que influyen en su realización en el laboratorio. Rev Iberoam Micol 1994; 11 105-10.
32. Cassone A, De Bernardis F, Torosantucci A, Tacconelli E, Tumbarello M, Cauda R. In vitro and in vivo anticandidal activity of human immunodeficiency virus protease inhibitors. J Infect Dis 1999; 180: 448-453.
33. Ceballos A, Aguirre JM, Echebarria M, Ceballos L. Prevalence and distribution of bucal candidosis in patients with AIDS. Med Bucal 1996; 1 (1): 6-10.
34. Ceballos A, Gaitan L, Ruesga M, Ceballos L, Quindós G. Prevalencia de lesiones bucales por *Candida* sp y sus variedades y serotipos en una población con SIDA sometida a terapia antirretroviral altamente activa. Rev Iberoam Micol 1998b; 15 (3): 141-5.
35. Ceballos García L, Quindós-Andrés G, Ceballos Salobrefia A. Prevalence of bucal manifestations associated with human immunodeficiency virus infection in a homosexual population. Med Bucal 1999; 4: 470-484.
36. Ceballos Salobrefia A, Gaitán Cepeda LA, Orihuela Cañada F, Barrionuevo Olea D, Ceballos García L, Quindós G. Resistencia in vitro a los antifúngicos en *Candida albicans* de pacientes infectados por el VIH con y sin candidosis bucal. Rev Iberoam Micol 1999; 16: 194-197.
37. Ceballos Salobrefia A, Quindós Andrés G, Ceballos García L. The influence of different risk behaviors in the appearance of bucal candidosis in AIDS patients. Med Bucal 2000; 5: 71-80.
38. Ceballos-Salobrefia A, Antúnez-Gálvez JM, Aguirre-Urizar JM, Bagán JV, Ceballos-García L. Bucal lesions associated to human immunodeficiency virus infection in a series of 510 patients. Med Bucal 1998; 3: 199-206.
39. Challacombe SJ. Immunologic aspects of bucal candidosis. Bucal Surg Bucal Med Bucal Pathol 1994; 78 (2): 202-10.
40. Chang HC, Chang JJ, Chan SH, Huang AH, Wu TL, Lin MC, Chang TC. Evaluation of Etest for Direct Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts in Positive Blood Cultures. J. Clin. Microbiol. 2001; 39 (4): 1328-33.
41. Chavez M, Bernal S, Valverde A, Gutierrez MJ, Quindos G, Mazuelos EM. In-vitro activity of voriconazole (UK-109,496), LY303366 and other antifungal agents against bucal *Candida* spp. isolates from HIV-infected patients. J Antimicrob Chemother 1999; 44 (5): 697-700.
42. Clancy CJ, Nguyen MH. Correlation between in vitro susceptibility determined by E test and response to therapy with amphotericin B: results from a multicenter prospective study of candidemia. Antimicrob Agents Chemother 1999; 43 (5): 1289-90.
43. Clayton YV, Richens J, Saleu G. Bucal carriage of yeasts in two villages in Papua New Guinea. Mycoses 1990; 33: 431-434.
44. Coleman D, D. Sullivan D, B. Harrington B, K. Haynes, M. Henman, D. Shanley, D. Bennett, G. Moran, C. McCreary, and L. O'Neill. 1997. Molecular and phenotypic analysis of *Candida dubliniensis*: a recently identified species linked with bucal candidosis in HIV-infected and AIDS patients. Bucal Dis. 3(Suppl. 1):S96-S101.
45. Coleman DC, Sullivan DJ, Bennett DE, Moran GP, Barry HJ, Shanley DB. Candidosis: the emergence of a novel species, *Candida dubliniensis*. Aids 1997; 11 (5): 557-67.

46. CONASIDA. Panorama Epidemiológico del VIH/SIDA e ITS en México. Consejo Nacional para la prevención y control del VIH/SIDA, Secretaría de Salud, México. Dirección general de epidemiología 30 Junio 2003. <http://www.salud.gob.mx/conasida/>
47. Contreras I, Pontón J, Quindós G. Prevalence of *Candida parapsilosis* in the bucal cavities of infants in Spain. *Clin Infect Dis* 1994; 18: 480-481.
48. Cuenca-Estrella M, Diaz-Guerra TM, Mellado E, Monzon A, Rodriguez-Tudela JL. Comparative in vitro activity of voriconazole and itraconazole against fluconazole-susceptible and fluconazole-resistant clinical isolates of *Candida* species from Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18 (6): 432-5.
49. Davey KG, Holmes AD, Johnson EM, Szekeley A, Warnock DW. Comparative evaluation of FUNGITEST and broth microdilution methods for antifungal drug susceptibility testing of *Candida* species and *Cryptococcus neoformans*. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 926-930.
50. De Bernardis F, Chiani P, Ciccozzi M, Pellegrini G, Ceddia T, D'Offizzi G, Quinti I, Sullivan PA, Cassone A. Elevated aspartic proteinase secretion and experimental pathogenicity of *Candida albicans* isolates from bucal cavities of subjects infected with human immunodeficiency virus. *Infect Immun* 1996; 64:466-471.
51. Diamond RD. Fungal surfaces: effects of interactions with phagocytic cells. *Rev Infect Dis* 1988; 10 Suppl 2 S428-31.
52. Diekema DJ, Pfaller MA, Messer SA, Houston A, Hollis RJ, Doern GV, The SENTRY Participants Group and R.N. Jones RN. In vitro activities of BMS-207147 against over 600 contemporary clinical bloodstream isolates of *Candida* species from the SENTRY antimicrobial surveillance program in North America and Latin America. *Antimicrob Agents Chemother* 1999; 43: 2236-2239.
53. Diz Dios P, Ocampo A, Miralles C, Otero I, Iglesias I, Rayo N. Frequency of oropharyngeal candidosis in HIV-infected patients on protease inhibitor therapy. *Bucal Surg Bucal Med Bucal Pathol Bucal Radiol Endod* 1999; 87: 437-441.
54. Diz Dios P, Ocampo A, Otero I, Iglesias I, Martínez C. Changes in oropharyngeal colonization and infection by *Candida albicans* in Human immunodeficiency virus-infected patients. *J Infect Dis* 2001; 183: 355-356.
55. Duffy RE, Adelson R, Niessen LC, Wescott WB, Watkins K, Rhyne RR. VA bucal HIV surveillance program: understanding the disease. *J Am Dent Assoc* 1992; 123 (10): 57-62.
56. Espinel-Ingroff A, Chaturvedi V, Fothergill A, Rinaldi MG. Optimal Testing Conditions for Determining MICs and Minimum Fungicidal Concentrations of New and Established Antifungal Agents for Uncommon Molds: NCCLS Collaborative Study. *J. Clin. Microbiol.* 2002; 40 (10): 3776-81.
57. Espinel-Ingroff, A., K. Boyle, and D.J. Sheehan. In vitro antifungal activities of voriconazole and reference agents as determined by NCCLS methods: review of the literature. *Mycopathologia* 2001. 150: 101-115.
58. Eversole LR. Inflammatory diseases of the mucous membranes. Part 2. Immunopathologic ulcerative and desquamative diseases. *J Calif Dent Assoc* 1994; 22 (4): 59-60, 4, 6809 passim.
59. Ficarra G, Shillitoe EJ. HIV-related infections of the bucal cavity. *Crit Rev Bucal Biol Med* 1992; 3 (3): 207-31.
60. Fidel PL, Jr., Sobel JD. Immunopathogenesis of recurrent vulvovaginal candidosis. *Clin Microbiol Rev* 1996; 9 (3): 335-48.

61. Gaitan L, Borges A, Franco F. Prevalencia de portadores de *Candida* sp en orofaringe en una población de adultos mexicanos. *Revista ADM* 1998; LV (4): 181-5.
62. Gillespie GM, Marino R. Bucal manifestations of HIV infection: a Panamerican perspective. *J Bucal Pathol Med* 1993; 22 (1): 2-7.
63. Goa KL, Barradell LB. Fluconazole. An update of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in major superficial and systemic mycoses in immunocompromised patients. *Drugs* 1995; 50 (4): 658-90.
64. Gottfredsson M, Cox GM, Indridason OS, De Almeida GMD, Heald AE, Perfect JR. Association of plasma levels of human immunodeficiency virus type 1 RNA and oropharyngeal *Candida* colonization. *J Infect Dis* 1999; 180: 534-537.
65. Greenspan D. Treatment of bucal candidosis in HIV infection. *Bucal Surg Bucal Med Bucal Pathol* 1994; 78 (2): 211-5.
66. Gutiérrez J, Mbucales P, González MA, Quindós G. *Candida dubliniensis*, a new fungal pathogen. *J Basic Microbiol* 2002; 42: 207-227.
67. Hannula J, Dogan B, Slots J, Okte E, Asikainen S. Subgingival strains of *Candida albicans* in relation to geographical origin and occurrence of periodontal pathogenic bacteria. *Bucal Microbiol Immunol* 2001; 16:113-118.
68. Hannula J, Saarela M, Alaluusua S, Slots J, Asikainen S. Phenotypic and genotypic characterization of bucal yeasts from Finland and the United States. *Bucal Microbiol Immunol* 1997; 12: 358-365.
69. Hannula J, Saarela M, Jousimies-Somer H, Takala A, Syrjänen R, Könönen E, Asikainen S. Age-related acquisition of bucal and nasopharyngeal yeast species and stability of colonization in young children. *Bucal Microbiol Immunol* 1999; 14: 176-182.
70. Hasenclever HF, Mitchell WO. Antigenic studies of *Candida*. IV. The relationship of the antigenic groups of *Candida albicans* to their isolation from various clinical specimens. *Sabouraudia* 1963; 2: 201-204.
71. Hauman CH, Thompson IO, Theuvsissen F, Wolfaardt P. Bucal carriage of *Candida* in healthy and HIV-seropositive persons. *Bucal Surg Bucal Med Bucal Pathol* 1993; 76 (5): 570-2.
72. Hay R. New antifungal agents. *Rev Iberoam Micol* 1996; 13 ((Supl. 1)): S56-S15).
73. Hazen KC. New and emerging yeast pathogens. *Clin Microbiol Rev* 1995; 8 (4): 462-78.
74. Hospenthal, D.R., C.K. Murray and M.G. Rinaldi. The role of antifungal susceptibility testing in the therapy of candidiasis. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2004;48: 153-160.
75. Johnson, E.M., D.W. Warnock, J. Luker, S.R. Porter, and C. Scully. Emergence of azole drug resistance in *Candida* species from HIV-infected patients receiving prolonged fluconazole therapy for bucal candidosis. *J. Antimicrob. Chemother.* 1995. 35: 103-114.
76. Jorge AO, Totti MA, de Almeida OP, Scully C. Bucal candidosis established in the sialoadenectomised rat. *J Bucal Pathol Med* 1993; 22 (2): 54-6.
77. Kleinegger CL, Lockhart SR, Vargas K, Soll DR. Frequency, intensity, species, and strains of bucal *Candida* vary as a function of host age. *J Clin Microbiol* 1996; 34: 2246-2254.
78. Kronvall G, Karlsson I. Fluconazole and Voriconazole Multidisk Testing of *Candida* Species for Disk Test Calibration and MIC Estimation. *J. Clin. Microbiol.* 2001; 39 (4): 1422-8.

79. Laverdiere M, Restieri C, Habel F. Evaluation of the in vitro activity of caspofungin against bloodstream isolates of *Candida* species from cancer patients: comparison of Etest and NCCLS reference methods. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 20 (6): 468-71.
80. Lehner T. Bucal candidosis. *Dent Pract* 1967; 17: 209-216.
81. Lipperheide V, Andracka L, Ponton J, Quindos G. Evaluation of the albicans IDR plate method for the rapid identification of *Candida albicans*. *Mycoses* 1993; 36 (11-12): 417-20.
82. Lischewski A, Ruhnke M, Tennagen I, Schonian G, Morschhauser J, Hacker J. Molecular epidemiology of *Candida* isolates from AIDS patients showing different fluconazole resistance profiles. *J Clin Microbiol* 1995; 33 (3): 769-71.
83. Loeffler J, Stevens DA. Antifungal drug resistance. *Clin Infect Dis* 2003; 36 (Suppl 1): S31-41.
84. Lynch DP. Bucal candidosis. History, classification, and clinical presentation. *Bucal Surg Bucal Med Bucal Pathol* 1994; 78 (2): 189-93.
85. Maenza, J.R., W.G. Merz, M.J. Romagnoli, J.C. Keruly, R.D. Moore, and J.E. Gallant. Infection due to fluconazole-resistant *Candida* in patients with AIDS: prevalence and microbiology. *Clin. Infect. Dis.* 1997. 24: 28-34.
86. Makarova, N.U., V.V. Pokrowsky, A.V. Kravchenko, L.V. Serebrovskaya, M.J. Zajnes, M.M. McNeil, B.A. Lasker, D.W. Warnock, and E. Reiss. Persistence of oropharyngeal *Candida albicans* strains with reduced susceptibilities to fluconazole among human immunodeficiency virus-seropositive children and adults in a long-term care facility. *J. Clin. Microbiol.* 2003. 41: 1833-1837.
87. Marco F, Pfaller MA, Messer SA, Jones RN. In vitro activity of a new triazole antifungal agent, Sch 56592, against clinical isolates of filamentous fungi. *Mycopathologia* 1998; 141 (2): 73-7.
88. Marichal P, Koymans L, Willemsens S, Bellens D, Verhasselt P, Luyten W, Borgers M, Ramaekers FC, Odds FC, Bossche HV. Contribution of mutations in the cytochrome P450 14alpha-demethylase (Erg11p, Cyp51p) to azole resistance in *Candida albicans*. *Microbiology* 1999; 145 (Pt 10): 2701-13.
89. Martin MV, Lamb DJ. Frequency of *Candida albicans* serotypes in patients with denture-induced stomatitis and normal denture wearers. *J Clin Pathol* 1982; 35: 888-891.
90. Masia Canuto M, Gutierrez Rodero F, Ortiz de la Tabla Ducasse V, Hernandez Aguado I, Martin Gonzalez C, Sanchez Sevillano A, Martin Hidalgo A. Determinants for the development of oropharyngeal colonization or infection by fluconazole-resistant *Candida* strains in HIV-infected patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2000;19: 593-601.
91. Masia Canuto MM, Gutierrez Rodero F, Ortiz de la Tabla Ducasse V, Martin Gonzalez C, Escolano Hortelano CM, Mora Rufete A, Martin Hidalgo A. [Epidemiology of yeast colonization and oropharyngeal infection other than *Candida albicans* in patients with HIV infection.] *Med Clin* 1999; 112: 211-214.
92. McCullough MJ, Ross BC, Reade PC. *Candida albicans*: a review of its history, taxonomy, epidemiology, virulence attributes, and methods of strain differentiation. *Int J Bucal Maxillofac Surg* 1996; 25 (2): 136-44.
93. Meis, J., M. Petrou, J. Bille, D. Ellis, D. Gibbs, and the Global Antifungal Surveillance Group. A global evaluation of the susceptibility of *Candida* species to fluconazole by disk diffusion. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2000. 36: 215-223.

94. Millon L, Manteaux A, Reboux G, Drobacheff C, Monod M, Barale T, Michel-Briand Y. Fluconazole-resistant recurrent bucal candidosis in human immunodeficiency virus-positive patients: persistence of *Candida albicans* strains with the same genotype. *J Clin Microbiol* 1994; 32 (4): 1115-8.
95. Morace G, Amato G, Bistoni F, Fadda G, Marone P, Montagna MT, Oliveri S, Polonelli L, Rigoli R, Mancuso I, La Face S, Másucci L, Romano L, Napoli C, Tato D, Buscema MG, Belli CM, Piccirillo MM, Conti S, Covan S, Fanti F, Cavanna C, D'Alo F, Pitzurra L. Multicenter comparative evaluation of six commercial systems and the national committee for clinical laboratory standards m27-a broth microdilution method for fluconazole susceptibility testing of *Candida* species. *J Clin Microbiol* 2002; 40 (8): 2953-8.
96. Morace G, Tamburrini E, Manzara S, Antinori A, Maiuro G, Dettori G. Epidemiological and clinical aspects of mycoses in patients with AIDS-related pathologies. *Eur J Epidemiol* 1990;6: 398-403.
97. Moran GP, Sullivan DJ, Coleman DC. 2002. Emergence of non-*Candida albicans* *Candida* species as pathogens. In: Calderone RA (ed.). *Candida and candidosis*. Washington, D.C., ASM Press, 2002.
98. Moran GP, Sullivan DJ, Henman MC, McCreary CE, Harrington BJ, Shanley DB, Coleman DC. Antifungal drug susceptibilities of bucal *Candida dubliniensis* isolates from human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected subjects and generation of stable fluconazole-resistant derivatives in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41 (3): 617-23.
99. Mosca CO, Moragues MD, Llovo J, Al Mosaid A, Coleman DC, Ponton J. Casein agar: a useful medium for differentiating *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J Clin Microbiol* 2003; 41: 1259-1262.
100. Muller FM, Weig M, Peter J, Walsh TJ. Azole cross-resistance to ketoconazole, fluconazole, itraconazole and voriconazole in clinical *Candida albicans* isolates from HIV-infected children with oropharyngeal candidosis. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46 (2): 338-40.
101. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. Approved standard-Second Edition. NCCLS document M27-A2. Wayne, NCCLS, 2002.
102. Navazesh M, Lucatorto F. Common bucal lesions associated with HIV infection. *J Calif Dent Assoc* 1993; 21 (9): 37-42.
103. Ng TT, Denning DW. Fluconazole resistance in *Candida* in patients with AIDS—a therapeutic approach. *J Infect* 1993; 26 (2): 117-25.
104. Odds FC. *Candida* and candidosis. 2nd ed. London, Baillière Tindall, 1988.
105. Odds FC. Resistance of yeasts to azole-derivative antifungals. *J Antimicrobial Chemother* 1993; 31: 463-471.
106. Oksala E. Factors predisposing to bucal yeast infections. *Acta Odontol Scand* 1990; 48 (1): 71-4.
107. Okuda K, Ishiwara K, Noguchi Y, Takahashi T, Tadokoro I. New type of antibody-enzyme conjugate which specifically kills *Candida albicans*. *Infect Immun* 1980; 27 (2): 690-2.
108. Olsen I. Bucal adhesion of yeasts. *Acta Odontol Scand* 1990; 48 (1): 45-53.

109. Paniagua GL, Monroy E, Negrete E, Vaca S. Susceptibility to 5-fluorocytosine, miconazole and amphotericin B of *Candida albicans* strains isolated from the throat of non-AIDS patients. *Rev Latinoam Microbiol* 2002; 44: 65-68.
110. Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, Filler SG, Dismukes WE, Walsh TJ, Edwards JE. Guidelines for treatment of candidosis. *Clin Infect Dis*. 2004; 38: 161-189.
111. Parvinen T, Larmás M. The relation of stimulated salivary flow rate and pH to Lactobacillus and yeast concentrations in saliva. *J Dent Res* 1981; 60 (12): 1929-35.
112. Pedersen GT. Yeast biota in mother and child. A mycological-clinical study of women followed up during pregnancy, the puerperium and 5-12 months after delivery, and of their children on the 7th day of life and at the age of 5-12 months. *Dan Med Bull* 1969; 16: 207-220.
113. Pelletier R, Loranger L, Marcotte H, De Carolis E. Voriconazole and fluconazole susceptibility of *Candida* isolates. *J Med Microbiol* 2002; 51 (6): 479-83.
114. Pelletier R, Peter J, Antin C, Gonzalez C, Wood L, Walsh TJ. Emergence of resistance of *Candida albicans* to clotrimazole in human immunodeficiency virus-infected children: in vitro and clinical correlations. *J Clin Microbiol* 2000; 38 (4): 1563-8.
115. Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ, Jones RN. In Vitro Activities of Voriconazole, Posaconazole, and Four Licensed Systemic Antifungal Agents against *Candida* Species Infrequently Isolated from Blood. *J. Clin. Microbiol.* 2003; 41 (1): 78-83.
116. Pfaller MA, Jones RN, Doern GV, Sader HS, Hollis RJ, The SENTRY Participant Group, Messer SA. International surveillance of bloodstream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and antifungal susceptibilities of isolates collected in 1997 in the United States, Canada and South America for the SENTRY program. *J Clin Microbiol* 1998; 36:1886-1889.
117. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Huynh H, Hollis RJ, Diekema DJ. In vitro activities of 5-fluorocytosine against 8,803 clinical isolates of *Candida* spp.: global assessment of primary resistance using National Committee for Clinical Laboratory Standards susceptibility testing methods. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46 (11): 3518-21.
118. Pfaller MA, Messer SA, Boyken L, Tendolkar S, Hollis RJ, Diekema DJ. Variation in susceptibility of bloodstream isolates of *Candida glabrata* to fluconazole according to patient age and geographic location. *J Clin Microbiol* 2003;41: 2176-219.
119. Pfaller MA. Epidemiology and control of fungal infections. *Clin Infect Dis* 1994; 19 Suppl 1 S8-13.
120. Pfaller, M. A., and W. L. Yu. Antifungal susceptibility testing: new technology and clinical applications. *Infect. Dis. Clin. N. Am.* 2001. 15: 1227-1261.
121. Pfaller, M. A., D. J. Diekema, L. Boyken, S. A. Messer, S. Tendokar, and R. J. Hollis. Evaluation of the Etest and disk diffusion methods for determining susceptibilities of 235 bloodstream isolates of *Candida glabrata* to fluconazole and voriconazole. *J. Clin. Microbiol.* 2003. 41: 1875-1880.
122. Pfaller, M. A., D. J. Diekema, R. N. Jones, H. S. Sader, A. C. Fluit, R. J. Hollis, S. A. Messer, and the SENTRY Participant Group. International surveillance of blood stream infections due to *Candida* species: frequency of occurrence and in vitro susceptibilities to fluconazole, ravuconazole, and voriconazole of isolates collected from 1997 through 1999 in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *J. Clin. Microbiol.* 2001. 39: 3254-3259.

123. Pfaller, M. A., D. J. Diekema, S. A. Messer, L. Boyken, and R. J. Hollis for the ARTEMIS Global Antifungal Susceptibility Program Participants Group. Activities of fluconazole and voriconazole against 1,586 recent clinical isolates of *Candida* species determined by broth microdilution, disk diffusion, and Etest methods: report from the ARTEMIS Global Antifungal Susceptibility Program, 2001. *J. Clin. Microbiol.* 2003. 41: 1440-1446.
124. Pfaller, M. A., L. Boyken, S.A. Messer, R.J. Hollis, and D.J. Diekema. Stability of Mueller-Hinton agar supplemented with glucose and methylene blue for disk diffusion testing of fluconazole and voriconazole. *J. Clin. Microbiol.* 2004. 42: 1288-1289
125. Pfaller, M. A., S. A. Messer, R. J. Hollis, R. N. Jones, and D. J. Diekema. In vitro activities of ravuconazole and voriconazole compared with those of four approved systemic antifungal agents against 6,970 clinical isolates of *Candida* spp. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2002. 46: 1723-1727.
126. Pfaller, M.A. and D.J. Diekema. Role of sentinel surveillance in candidemia: trends in species distribution and antifungal susceptibility. *J. Clin. Microbiol.* 2002. 40: 3551-3557.
127. Pfaller, M.A., D.J. Diekema, and the International Fungal Surveillance Participant Group. Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida*. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004. 10 (Suppl. 1): 11-23.
128. Pfaller, M.A., R.N. Jones, G.V. Doern, A.C. Fluit, J. Verhoef, H.S. Sader, S.A. Messer, A. Houston, S. Coffman, R.J. Hollis, and the SENTRY Participant Group (Europe). International surveillance of blood stream infections due to *Candida* species in the European SENTRY Program: species distribution and antifungal susceptibility including the investigational triazole and echinocandin agents. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 1999. 35: 19-25
129. Pfaller, M.A., S.A. Messer, L. Boyken, R.J. Hollis, C. Rice, S. Tendolkar, and D.J. Diekema. In vitro activities of voriconazole, posaconazole, and fluconazole against 4,169 clinical isolates of *Candida* spp. and *Cryptococcus neoformans* collected during 2001 and 2002 in the ARTEMIS global antifungal surveillance program. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 2004. 48: 201-205.
130. Pindborg JJ. Classification of bucal lesions associated with HIV infection. *Bucal Surg Bucal Med Bucal Pathol* 1989; 67 (3): 292-5.
131. Pindborg JJ. Bucal manifestations of the HIV-infection: classification problems. *J Dent Assoc S Afr* 1992; 47 (5): 224-6.
132. Pinjon E, Sullivan D, Salkin I, Shanley D, Coleman D. Simple, inexpensive, reliable method for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J Clin Microbiol* 1998; 36 (7): 2093-5.
133. Quindos G, Abarca L, Carrilo-Muñoz A, Arevalo M, Bornay F, Casals J, Hernandez-Molina J, Iglesias I, Linares M, Martín.Mazuelos E, Pereiro-Ferreiras M, Rezusta A, Rubio M, Salesa R, SanMillan R, Torres-Rodríguez J. Multicenter survey of in vitro antifungal resistance in yeast of medical importance isolated from Spanish patients. *Rev Iberoam Micol* 1999; 16 97-100.
134. Quindos G, Lipperheide V, Ponton J. Evaluation of two commercialized systems for the rapid identification of medically important yeasts. *Mycoses* 1993; 36 (9-10): 299-303.

135. Quindós G, Ribacoba L, Contreras I, Aguirre J. Tratamiento de las candidosis orofaríngeas. *Rev Iberoam Micol* 1996; 13 ((Supl. 1)): S11-S5.
136. Quindós G, Salesa R, Carrillo-Munoz AJ, Lipperheide V, Jaudenes L, San Millan R, Torres-Rodriguez JM, Ponton J. Multicenter evaluation of ATB fungus: a standardized micromethod for yeast susceptibility testing. *Chemotherapy* 1994; 40 (4): 245-51.
137. Quindós G, San Millan R, Bikandi J, Ponton J. [Utility of Fluoroplate Candida for the rapid identification of *Candida albicans*]. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 1996; 14 (10): 586-9.
138. Ramirez-Amador V, Esquivel-Pedraza L, Sierra-Madero J, Anaya-Saavedra G, Gonzalez-Ramirez I, Ponce-de-Leon S. The Changing Clinical Spectrum of Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Related Bucal Lesions in 1,000 Consecutive Patients: A 12-Year Study in a Referral Center in Mexico. *Medicine (Baltimore)* 2003; 82 (1): 39-50.
139. Reichart PA, Samaranayake LP, Philipsen HP. Pathology and clinical correlates in bucal candidosis and its variants: a review. *Bucal Dis* 2000; 6 (2): 85-91.
140. Rex JH, Rinaldi MG, Pfaller MA. Resistance of *Candida* species to fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 1995; 39 (1): 1-8.
141. Ripeau JS, Fiorillo M, Aumont F, Belhumeur P, de Repentigny L. Evidence for differential expression of *Candida albicans* virulence genes during bucal infection in intact and human immunodeficiency virus type 1-transgenic mice. *J Infect Dis* 2002; 185 (8): 1094-102.
142. Rossie KM, Taylor J, Beck FM, Hodgson SE, Blozis GG. Influence of radiation therapy on bucal *Candida albicans* colonization: a quantitative assessment. *Bucal Surg Bucal Med Bucal Pathol* 1987; 64 (6): 698-701.
143. Ruhnke M, Schmidt-Westhausen A, Morschhauser J. Development of simultaneous resistance to fluconazole in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* in a patient with AIDS. *J Antimicrob Chemother* 2000; 46 (2): 291-5.
144. Ruhnke M, Schmidt-Westhausen A, Trautmann M. In vitro activities of voriconazole (UK-109,496) against fluconazole-susceptible and -resistant *Candida albicans* isolates from bucal cavities of patients with human immunodeficiency virus infection. *Antimicrob Agents Chemother* 1997; 41 (3): 575-7.
145. Safdar A, Chaturvedi V, Koll BS, Larone DH, Perlin DS, Armstrong D. Prospective, Multicenter surveillance study of *Candida glabrata*: Fluconazole and itraconazole susceptibility profiles in bloodstream, invasive, and colonizing strains and differences between isolates from three urban teaching hospitals in New York city (*Candida* Susceptibility Trends Study, 1998 to 1999). *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 3268-3272.
146. Samaranayake LP, Hughes A, Weetman DA, MacFarlane TW. Growth and acid production of *Candida* species in human saliva supplemented with glucose. *J Bucal Pathol* 1986; 15 (5): 251-4.
147. Samaranayake LP, Yaacob HB. Classification of bucal candidosis. In: Samaranayake LP, MacFarlane TW (eds.). *Bucal candidosis*. London, Butterworth, 1990, 124-132.
148. Sanchez-Vargas LO, Perez-Rios P, Romo-Garcia J, Corona-Izquierdo FP, Hidalgo-Loperena H, Franco-Martinez F. [Salivary pH and culture determinations in HIV infected and non-HIV infected patients with bucal candidosis]. *Rev Iberoam Micol* 2002; 19 (3): 155-60.
149. Sanglard D, Odds FC. Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Lancet Infect Dis* 2002; 2 (2): 73-85.

150. Sanglard D. Clinical relevance of mechanisms of antifungal drug resistance in yeasts. *Enferm Infecc Microbiol Clin* 2002a; 20 (9): 462-9; quiz 70, 79.
151. Sanglard D. Resistance of human fungal pathogens to antifungal drugs. *Curr Opin Microbiol* 2002b; 5 (4): 379-85.
152. San-Millan R, Ribacoba L, Ponton J, Quindos G. Evaluation of a commercial medium for identification of *Candida* species. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15 (2): 153-8.
153. Santarpia RP, 3rd, Pollock JJ, Renner RP, Spiechowicz E. An in vivo replica method for the site-specific detection of *Candida albicans* on the denture surface in denture stomatitis patients: correlation with clinical disease. *J Prosthet Dent* 1990; 63 (4): 437-43.
154. Sasaki E, Maesaki S, Miyazaki Y, Yanagihara K, Tomono K, Tashiro T, Kohno S. Synergistic effect of ofloxacin and fluconazole against azole-resistant *Candida albicans*. *J Infect Chemother* 2000; 6 (3): 151-4.
155. Scully C, El-Kabir M, Samaranayake L. *Candida* and Bucal Candidosis. A review *Critical Reviews in Bucal Biology and Medicine* 1994; 5 (2): 125-57.
156. Segal E, Kremer I, Dayan D. Inhibition of adherence of *Candida albicans* to acrylic by a chitin derivative. *Eur J Epidemiol* 1992; 8 (3): 350-5.
157. Sherman RG, Prusinski L, Ravenel MC, Jbucalmon RA. Bucal candidosis. *Quintessence Int* 2002; 33 (7): 521-32.
158. Soll DR, Morrow B, Srikantha T, Vargas K, Wertz P. Developmental and molecular biology of switching in *Candida albicans*. *Bucal Surg Bucal Med Bucal Pathol* 1994; 78 (2): 194-201.
159. Stenderup A. Bucal mycology. *Acta Odontol Scand* 1990; 48 (1): 3-10.
160. Sullivan D, Haynes K, Bille J, Boerlin P, Rodero L, Lloyd S, Henman M, Coleman D. Widespread geographic distribution of bucal *Candida dubliniensis* strains in human immunodeficiency virus-infected individuals. *J Clin Microbiol* 1997; 35: 960-964.
161. Sullivan DJ, Westerneng TJ, Haynes KA, Bennett DE, Coleman DC. *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with bucal candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology* 1995; 141: 1507-1521.
162. Vargas KG, Joly S. Carriage frequency, intensity of carriage, and strains of bucal yeast species vary in the progression to bucal candidosis in human immunodeficiency virus-positive individuals. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 341-350
163. Vargas SL, Patrick CC, Ayers GD, Hughes WT. Modulating effect of dietary carbohydrate supplementation on *Candida albicans* colonization and invasion in a neutropenic mouse model. *Infect Immun* 1993; 61 (2): 619-26.
164. Whelan WL, Kirsch DR, Kwon-Chung KJ, Wahl SM, Smith PD. *Candida albicans* in patients with the acquired immunodeficiency syndrome: absence of a novel of hypervirulent strain. *J Infect Dis* 1990; 162 (2): 513-8.
165. White A, Goetz MB. Azole-resistant *Candida albicans*: report of two cases of resistance to fluconazole and review. *Clin Infect Dis* 1994; 19 (4): 687-92.
166. White MH. Is vulvovaginal candidosis an AIDS-related illness? *Clin Infect Dis* 1996; 22 Suppl 2 S124-7.
167. Wikner S, Soder PO. Factors associated with salivary buffering capacity in young adults in Stockholm, Sweden. *Scand J Dent Res* 1994; 102 (1): 50-3.

168. Williams DW, Lewis MA. Isolation and identification of *Candida* from the bucal cavity. *Bucal Dis* 2000; 6 (1): 3-11.
169. Williams DW, Potts AJ, Wilson MJ, Matthews JB, Lewis MA. Characterisation of the inflammatory cell infiltrate in chronic hyperplastic candidosis of the bucal mucosa. *J Bucal Pathol Med* 1997; 26 (2): 83-9.
170. Willinger B, Apfalter P, Hirschl AM, Makristathis A, Rotter M, Seibold M. Susceptibility testing of *Candida* species: comparison of NCCLS microdilution method with Fungitest®. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2000; 38: 11-15.
171. Witthuhn F, Toubas D, Béguinot I, Aubert D, Rouger C, Remy G, Pinon JM. Evaluation of the Fungitest kit by using strains from human immunodeficiency virus-infected patients: study of azole drug susceptibility. *J Clin Microbiol* 1999; 3: 864-866.
172. Witthuhn, F., D. Toubas, I. Beguinot, D. Aubert, C. Rouger, G. Remy, and J.M. Pinon. Evaluation of the fungitest kit by using strains from human immunodeficiency virus-infected patients: study of azole drug susceptibility. *J Clin Microbiol.* 1999. 37: 864-866.
173. Wroblewska MM, Swoboda-Kopec E, Rokosz A, Krawczyk E, Marchel H, Luczak M. Epidemiology of clinical isolates of *Candida albicans* and their susceptibility to triazoles. *Int J Antimicrob Agents* 2002; 20: 472-475.
174. Xu J, Mitchell TG. Geographical differences in human bucal yeast biota. *Clin Infect Dis* 2003; 36: 221-224.

ANEXOS

ANEXO 1. MATRIZ PARA LA OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Condición	Concepto	Tipo	Indicador
Edad	Independiente	Número de años desde la fecha de nacimiento hasta la fecha actual	Cualitativa nominal	Años cumplidos
Género	Independiente	Definición de sexo masculino o femenino	Cualitativa nominal	Personas pertenecientes a uno u otro género.
VIH+/SIDA	Independiente	Presencia o ausencia de infección causada por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) con o sin manifestaciones clínicas o con presencia del síndrome de inmunodeficiencia Adquirida	Cualitativa ordinal	Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana, Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. Positivo a pruebas de identificación Elisa y Western Blott. Pacientes VIH negativos: determinado por parámetros clínicos
Células CD4	Independiente	Linfocitos T CD-4 o cooperadores. Células del sistema inmunológico específico, responsables de la activación de la respuesta inmune celular y humoral.	Cualitativa nominal	
Carga viral	Independiente	Número de VIH, circulantes en sangre	Cualitativa nominal	
Candidosis Bucal	Dependiente	Lesiones causadas por la infección micótica asociada a <i>Candida</i> sp. Que puede ser de varios tipos clínicos.	Cualitativa ordinal	Seudomembranosa. Placas blanco amarillentas que se desprenden al frotarlas. Eritematosa. Su presentación clínica es caracterizada por áreas eritematosas generalizadas en el dorso de la lengua, paladar y mucosa bucal. Hiperplásica. Es una forma única de la enfermedad que es una reacción hiperplásica, se caracteriza por ser una lesión blanca que al frotarla no es posible retirarla. Queilitis angular. Es un tipo de candidosis labiales, se caracteriza por ardor, eritema y pequeñas fisuras. Estomatitis protésica. Irritación de moderada a severa con enrojecimiento y ardor en el borde residual que está en contacto con la superficie acrílica.
Especies de <i>Candida</i>	Dependiente	Especie de <i>Candida</i> aislada y determinada por pruebas de asimilación de carbohidratos. Sistema API 20C AUX y/o IDE 32C AUX (BioMerlux)	Cualitativa ordinal	<i>C. albicans</i> , <i>C. glabrata</i> , <i>C. tropicales</i> , <i>C. parapsilosis</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. guilliermondii</i> , otras especies levaduriformes
Serotipo de <i>C. albicans</i>	Dependiente	Serotipo identificado por inmunofluorescencia indirecta, utilizando el anticuerpo monoclonal B9E	Cualitativa nominal	Serotipo A Serotipo B
Sensibilidad a antifúngicos	Dependiente	Sensibilidad de los aislamientos de <i>Candida</i> : se medirá en función de la inhibición en el crecimiento de <i>Candida</i> mediante los criterios descritos por el fabricante de FUNGITEST y según los criterios del método M44P de la NCCLS.	Cualitativa ordinal	Susceptible. Susceptible intermedio Resistente

TABLA 7. CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DE 312 PERSONAS INCLUIDAS EN ESTE ESTUDIO

	Grupo de pacientes estudiados				Niños VIH+/SIDA		Niños sin VIH	
	Adultos VIH +/SIDA		Adultos sin VIH		Total	F/M	Total	F/M
	Total	F/M	Total	F/M	Total	F/M	Total	F/M
No. de personas (%)	51 (100)	9/42 (17.6/82.4)	109 (100)	69/40 (63.3/36.7)	60 (100)	36/24 (60/40)	92 (100)	53/39 (57.6/42.4)
Edad (años)								
Media	36.4	31.2/37.5	64.40	63.79/65.45	5.18	5.55/4.62	6.93	6.33/7.74
Rango	22-65	24-43/22-65	42-89	49-89/42-84	1-13	1-11/1-13	1-13	1-13/2-13
Linfocitos T CD4+ / µl								
Media	484.1	562/464.6	NA	NA	673.35	557.88/862.29	NA	NA
> 500	14 (27.4)	4/10 (7.8/19.6)	NA	NA	25 (41.6)	13/12 (21.6/20)	NA	NA
200-500	23 (45.1)	5/18 (9.8/35.3)	NA	NA	25 (41.6)	17/8 (28.3/13.3)	NA	NA
< 200	14 (27.4)	0/14 (0/27.4)	NA	NA	8 (13.3)	6/2 (10/3.3)	NA	NA
Carga viral (HIV RNA copias / ml)								
Media	65,945.1	94,826.3/58,724.8	NA	NA	49343.59	42863.17/ 58923.34	NA	NA
< 10,000	17 (33.3)	3/14 (5.9/27.4)	NA	NA	20 (33.3)	11/9 (18.3/15)	NA	NA
≥ 10,000	34 (66.6)	6/28 (11.8/54.9)	NA	NA	40 (66.6)	25/15 (41.6/25)	NA	NA
No. de casos colonizados o infectados (%)	38 (74.5)	7/31 (13.7/60.8)	67 (61.5)	42/25 (38.5/22.9)	36 (60)	22/14 (36.7/23.3)	37 (40.2)	20/17 (21.7/18.5)
No. de casos con candidosis (%)								
Seudomembranosa	32 (62.7)	6/26 (11.8/51)	4 (3.7)	1/3 (0.9/2.8)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Eritematosa	1 (1.9)	0/1 (0/2)	1 (0.9)	0/1(0/0.9)	7 (11.7)	2/5 (3.3/8.3)	0 (0)	0 (0)
Estomatitis protésica	0 (0)	0 (0)	42 (38.5)	25/17 (22.9/15.6)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
Seudomembranosa + Eritematosa	5 (9.8)	1/4 (2/7.8)	6 (5.5)	5/1 (4.6/0.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
No. casos no-colonizados (%)	13 (25.5)	2/11 (3.9/21.6)	42 (38.5)	27/15 (24.8/13.8)	24 (40)	14/10 (23.3/16.7)	55 (59.8)	33/22 (35.8/23.9)
No of casos con terapia antiretroviral (%)								
AZT	2 (3.9)	0/2 (0/3.9)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)
TARGA	22 (43.2)	3/19 (5.9/37.3)	0 (0)	0 (0)	50 (83.3)	32/18 (29.4/30)	0 (0)	0 (0)
Ninguna	27 (52.9)	6/21 (11.8/41.2)	109 (100)	69/40 (63.3/36.7)	10 (16.6)	4/6 (6.7/10)	0 (0)	0 (0)

F/M = Femenino/masculino; AZT= Zidovudine; TARGA= Highly active antiretroviral therapy, NA= No aplica

TABLA 8. DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES DEL TOTAL DE LOS AISLAMIENTOS

Especies de <i>Candida</i>	Número de aislamientos (% del total de pacientes)	% del total de aislamientos
<i>C. albicans</i>	136 (42.4)	72.7
<i>C. glabrata</i>	35 (10.9)	18.7
<i>C. tropicalis</i>	11 (3.4)	5.9
<i>C. parapsilosis</i>	2 (0.6)	1.1
<i>S. cerevisiae</i>	3 (0.9)	1.6
Total de aislamientos	187 (58.3)	100
Cultivos negativos	134 (41.7)	
Total	321 (100)	

TABLA 9. DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES POR GRUPO DE ESTUDIO

Grupo de estudio	Especies de <i>Candida</i>	Número de aislamientos (%)
Adultos VIH+/SIDA	<i>C. albicans</i>	32 (84.2)
	<i>C. glabrata</i>	3 (7.2)
	<i>S. cerevisiae</i>	3 (7.2)
	Total	38 (100)
Adultos VIH-	<i>C. albicans</i>	39 (52)
	<i>C. glabrata</i>	29 (38.7)
	<i>C. tropicalis</i>	6 (8)
	<i>C. parapsilosis</i>	1 (1.3)
	Total	75 (100)
Niños VIH+/SIDA	<i>C. albicans</i>	33 (89.2)
	<i>C. glabrata</i>	1 (2.7)
	<i>C. tropicalis</i>	2 (5.4)
	<i>C. parapsilosis</i>	1 (2.7)
	Total	37 (100)
Niños VIH-	<i>C. albicans</i>	32 (86.5)
	<i>C. glabrata</i>	2 (5.4)
	<i>C. tropicalis</i>	3 (8.1)
	Total	37 (100)

TABLA 10. CARACTERÍSTICAS MICOLÓGICAS DE LOS AISLAMIENTOS CLÍNICOS EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE PACIENTES.

Estatus Clínico	Especies de levaduras	No. aislamientos (%)			Adultos VIH+/SIDA			Adultos sin VIH			Niños VIH+/SIDA ^b			Niños sin VIH		
		Total	F/M	P*	Total	F/M	P*	Total	F/M	P*	Total	F/M	P*	Total	F/M	P*
Colonización	<i>Candida albicans</i>	71 (83.5)	48/23 (56.5/27)	0.004	0 (0)	0 (0)		12 (66.7)	11/1 (61.1/5.6)	0.01**	27 (90)	19/8 (63.3/26.7)	NS	32 (86.5)	18/14 (48.6/37.8)	NS
	<i>C. albicans</i> A	62 (72.9)	42/20 (49.4/23.5)	0.02	0 (0)	0 (0)		8 (44.4)	8/0 (44.4/0)	0.02**	24 (80)	17/7 (56.6/23.3)	NS	30 (81)	17/13 (45.9/35.1)	NS
	<i>C. albicans</i> B	9 (10.6)	6/3 (7.1/3.5)	NS**	0 (0)	0 (0)		4 (22.2)	3/1 (16.7/5.6)	NS	3 (10)	2/1 (6.6/3.4)	NS	2 (10.5)	1/1 (2.7/2.7)	NS
	<i>C. glabrata</i>	6 (7.1)	3/3 (3.5/3.5)	NS	0 (0)	0 (0)		3 (16.7)	1/2 (5.6/11.1)	NS	1 (3.4)	1/0 (3.4/0)		2 (5.4)	1/1 (2.7/2.7)	NS
	<i>C. parapsilosis</i>	1 (1.2)	0/1 (0/1.2)	NS	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)		1 (3.4)	0/1 (0/3.4)		0 (0)	0 (0)	
	<i>C. tropicalis</i>	7 (8.2)	3/4 (3.5/4.7)	NS	0 (0)	0 (0)		3 (16.7)	1/2 (5.6/11.1)	NS	1 (3.4)	1/0 (3.4/0)		3 (8.1)	1/2 (2.7/5.4)	NS
	Total	85 (100)	54/31 (63.5/36.5)		0 (0)	0 (0)		18 (100)	13/5 (72.2/27.8)		30 (100)	21/9 (70/30)		37 (100)	20/17 (54/46)	
PSC	<i>C. albicans</i>	28 (77.8)	6/22 (16.7/61.1)	0.001	26 (81.3)	6/20 (18.8/62.5)	NS	2 (50)	0/2 (0/50)	0.05	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> A	20 (55.6)	4/16 (11.1/44.5)	0.001	19 (59.4)	4/15 (12.5/46.9)	NS	1 (25)	0/1 (0/25)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> B	8 (22.2)	2/6 (5.6/16.7)	NS	7 (21.9)	2/5 (6.3/15.6)	NS	1 (25)	0/1 (0/25)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	<i>C. glabrata</i>	5 (13.9)	1/4 (2.8/11.1)	0.04	3 (9.4)	0/3 (0/9.4)		2 (50)	1/1 (25/25)	NS	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	<i>Saccharomyces</i>	3 (8.3)	0/3 (0/8.3)		3 (9.4)	0/3 (0/9.4)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	Total	36 (100)	7/29 (19.4/80.6)		32 (100)	6/26 (18.8/81.3)		4 (100)	1/3 (25/75)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
EC	<i>C. albicans</i>	7 (77.8)	2/5 (22.2/55.6)	NS	1 (100)	0/1 (0/100)		0 (0)	0/0 (0/0)		6 (85.7)	2/4 (28.6/57.1)	NS**	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> A	5 (55.6)	1/4 (11.1/44.4)	NS	1 (100)	0/1 (0/100)		0 (0)	0/0 (0/0)		4 (57.1)	1/3 (14.3/42.9)	NS**	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> B	2 (22.2)	1/1 (11.1/11.1)	NS	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)		2 (28.6)	1/1 (14.3/14.3)	NS	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. glabrata</i>	1 (11.1)	0/1 (0/11.1)		0 (0)	0 (0)		1 (100)	0/1 (0/100)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	<i>C. tropicalis</i>	1 (11.1)	0/1 (0/11.1)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)		1 (14.3)	0/1 (0/14.3)		0 (0)	0 (0)	
	Total	9 (100)	2/7 (22.2/77.8)		1 (100)	0/1 (0/100)		1 (100)	0/1 (0/100)		7 (100)	2/5 (28.6/71.4)		0 (0)	0 (0)	
DS	<i>C. albicans</i>	22 (48.8)	11/11 (24.4/24.4)	NS	0 (0)	0 (0)		22 (48.8)	11/11 (24.4/24.4)	0.03	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> A	20 (44.4)	10/10 (22.2/22.2)	NS	0 (0)	0 (0)		20 (44.4)	10/10 (22.2/22.2)	0.01	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> B	2 (4.4)	1/1 (2.2/2.2)	NS	0 (0)	0 (0)		2 (4.4)	1/1 (2.2/2.2)	NS	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	<i>C. glabrata</i>	20 (42.2)	15/5 (33.3/11.1)	0.03	0 (0)	0 (0)		20 (42.2)	15/5 (33.3/11.1)	NS	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	<i>C. parapsilosis</i>	1 (2.2)	1/0 (2.2/0)		0 (0)	0 (0)		1 (2.2)	1/0 (2.2/0)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	<i>C. tropicalis</i>	3 (6.5)	2/1 (4.4/2.2)	NS	0 (0)	0 (0)		3 (6.5)	2/1 (4.4/2.2)	NS	0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	Total	46 (100)	29/17 (64.4/37.8)		0 (0)	0 (0)		46 (100)	29/17 (64.4/37.8)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
PSC+EC	<i>C. albicans</i>	8 (72.7)	4/4 (22.2/22.2)	NS	5 (100)	1/4 (20/80)	NS	3 (60)	3/0 (50/0)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> A	6 (54.5)	4/2 (22.2/11.1)	NS	3 (60)	1/2 (20/40)	NS	3 (50)	3/0 (50/0)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> B	2 (18.2)	0/2 (0/11.1)		2 (40)	0/2 (0/40)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	<i>C. glabrata</i>	3 (27.3)	2/1 (5.6/5.6)	NS	0 (0)	0 (0)		3 (50)	2/1 (33.3/16.7)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	
	Total	11 (100)	6/5 (50/50)		5 (100)	1/4 (20/80)		6 (100)	5/1 (83.3/16.6)		0 (0)	0 (0)		0 (0)	0 (0)	

F/M = Femenino/masculino. PSC= Candidosis pseudomembranosa; EC= Candidosis eritematosa; DS= Estomatitis por dentadura; y PSC+EC= Seudomembranosa/eritematosa.

^a Cultivos mixtos: 5 cultivos: *C. albicans* + *C. glabrata*, 1 *C. albicans* + *C. tropicalis*, 1 *C. glabrata* + *C. tropicalis*, and 1 *C. glabrata* + *C. parapsilosis*.

^b Cultivos mixtos: 1 cultivo: *C. albicans* + *C. glabrata*.

P*: Pearson-Chi Cuadrada, asociación de estatus clínico vs F/M por especies de *Candida*. **Fisher's Exact Test

TABLA 11. SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA DE ACUERDO A CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DEL TOTAL DE LOS AISLAMIENTOS.

Estatus clínico	Especies de levaduras	No. de aislamientos (%)	ITZ			KTZ		
			S	I	R	S	I	R
colonización	<i>C. albicans</i>	71 (100)	50 (70.4)	13 (18.3)	8 (11.3)	50 (70.4)	12 (16.9)	9 (12.7)
	<i>C. albicans</i> A	62 (100)	44 (71)	11 (17.7)	7 (11.3)	44 (71)	11 (17.7)	7 (11.3)
	<i>C. albicans</i> B	9 (100)	6 (66.7)	2 (22.2)	1 (11.1)	6 (66.7)	1 (11.1)	2 (22.2)
	<i>C. glabrata</i>	6 (100)	2 (33.3)	2 (33.3)	2 (33.3)	3 (50)	2 (33.3)	1 (16.7)
	<i>C. parapsilosis</i>	1 (100))	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
	<i>C. tropicalis</i>	7 (100)	1 (14.3)	5 (71.4)	1 (14.3)	4 (57.1)	2 (28.6)	1 (14.3)
	Total	85 (100)	53 (62.4)	21 (24.7)	11 (12.9)	58 (68.3)	16 (18.8)	11 (12.9)
PSC	<i>C. albicans</i>	28 (100)	21 (75)	7 (25)	0 (0)	20 (71.4)	5 (17.9)	3 (10.7)
	<i>C. albicans</i> A	20 (100)	16 (80)	4 (20)	0 (0)	16 (80)	4 (20)	0 (0)
	<i>C. albicans</i> sero B	8 (100))	5 (62.5)	3 (37.5)	0 (0)	4 (50)	1 (12.5)	3 (37.5)
	<i>C. glabrata</i>	5 (100)	0 (0)	5 (100)	0 (0)	3 (60)	2 (40)	0 (0)
	<i>Saccharomyces</i>	3 (100))	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)
	Total	36 (100)	24 (66.7)	12 (33.3)	0 (0)	26 (72.2)	7 (19.4)	3 (8.3)
EC	<i>C. albicans</i>	7 (100)	5 (71.4)	2 (28.6)	0 (0)	4 (57.1)	3 (42.9)	0 (0)
	<i>C. albicans</i> A	5 (100)	3 (60)	2 (40)	0 (0)	3 (60)	2 (40)	0 (0)
	<i>C. albicans</i> B	2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	1 (50)	0 (0)
	<i>C. glabrata</i>	1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)
	<i>C. tropicalis</i>	1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
	Total	9 (100)	7 (77.8)	2 (22.2)	0 (0)	5 (55.6)	3 (33.3)	1 (11.1)
	DS	<i>C. albicans</i>	22 (100)	14 (63.6)	5 (22.7)	3 (13.6)	16 (72.7)	4 (18.2)
<i>C. albicans</i> A		20 (100)	12 (60)	5 (25)	3 (15)	14 (70)	4 (20)	2 (10)
<i>C. albicans</i> B		2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
<i>C. glabrata</i>		20 (100)	7 (35)	9 (45)	4 (20)	12 (60)	7 (35)	1 (5)
<i>C. parapsilosis</i>		1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
<i>C. tropicalis</i>		3 (100)	2 (66.7)	1 (33.3)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)
Total		46 (100)	23 (50)	16 (34.8)	7 (15.2)	32 (69.6)	11 (23.9)	3 (6.5)
PSC+EC		<i>C. albicans</i>	8 (100)	6 (75)	2 (25)	0 (0)	7 (87.5)	1 (12.5)
	<i>C. albicans</i> A	6 (100)	4 (66.7)	2 (33.3)	0 (0)	5 (83.3)	1 (16.7)	0 (0)
	<i>C. albicans</i> B	2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
	<i>C. glabrata</i>	3 (100)	2 (66.7)	1 (33.3)	0 (0)	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)
	Total	11 (100)	8 (72.7)	3 (27.3)	0 (0)	8 (72.7)	2 (18.2)	1 (9.1)
Total	<i>C. albicans</i>	136 (100)	96 (70.6)	29 (21.3)	11 (8.1)	97 (71.9)	25 (18.4)	14 (10.3)
	<i>C. albicans</i> A	113 (100)	79 (69.9)	24 (21.2)	10 (8.8)	82 (72.6)	22 (19.5)	9 (8)
	<i>C. albicans</i> B	23 (100)	17 (73.9)	5 (21.7)	1 (4.3)	15 (65.2)	3 (13)	5 (21.7)
	<i>C. glabrata</i>	35 (100)	10 (28.6)	18 (51.4)	7 (20)	19 (54.3)	12 (34.3)	4 (11.4)
	<i>C. parapsilosis</i>	2 (100))	0 (0)	2 (100)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
	<i>C. tropicalis</i>	11 (100)	4 (36.4)	5 (45.5)	2 (18.2)	8 (72.7)	2 (18.2)	1 (9.1)
	<i>Saccharomyces</i>	3 (100))	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)
	Total	187 (100)	113 (60.4)	54 (28.9)	20 (10.7)	129 (69)	39 (20.8)	19 (10.2)

PSC= Candidosis pseudomembranosa; EC= Candidosis eritematosa; DS= Estomatitis por dentadura; y PSC+EC= Seudomembranosa/eritematosa .
KTZ= Ketaconazol; e ITZ= Itraconazol.

TABLA 12. SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA DE ACUERDO A CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS DEL TOTAL DE LOS AISLAMIENTOS.

Estatus clínico	Especies de levaduras	No. de aislamientos (%)	MCZ			FCZ			AMB			
			S	I	R	S	I	R	S	I	R	
Colonización	<i>C. albicans</i>	71 (100)	63 (88.7)	7 (9.9)	1 (1.4)	63 (88.7)	6 (8.5)	2 (2.8)	69 (97.2)	2 (2.8)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> A	62 (100)	55 (88.7)	6 (9.7)	1 (1.6)	55 (88.7)	6 (9.7)	1 (1.6)	60 (96.8)	2 (3.2)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> B	9 (100)	8 (88.9)	1 (11.1)	0 (0)	8 (88.9)	0 (0)	1 (11.1)	9 (100)	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. glabrata</i>	6 (100)	4 (66.7)	0 (0)	2 (33.3)	4 (66.7)	2 (33.3)	0 (0)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. parapsilosis</i>	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	
	<i>C. tropicalis</i>	7 (100)	1 (14.3)	5 (71.4)	1 (14.3)	5 (71.4)	1 (14.3)	1 (14.3)	6 (85.7)	1 (16.7)	0 (0)	
	Total	85 (100)	68 (80)	13 (15.3)	4 (4.7)	73 (85.9)	9 (10.6)	3 (3.5)	81 (95.3)	4 (4.7)	0 (0)	
PSC	<i>C. albicans</i>	28 (100)	26 (92.9)	2 (7.1)	0 (0)	27 (96.4)	1 (3.6)	0 (0)	28 (100)	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> A	20 (100)	18 (90)	2 (10)	0 (0)	20 (100)	0 (0)	0 (0)	20 (100)	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> B	8 (100)	8 (100)	0 (0)	0 (0)	7 (87.5)	1 (12.5)	0 (0)	8 (100)	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. glabrata</i>	5 (100)	4 (80)	1 (20)	0 (0)	3 (60)	2 (40)	0 (0)	5 (100)	0 (0)	0 (0)	
	<i>Saccharomyces</i>	3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	
	Total	36 (100)	33 (91.7)	3 (8.3)	0 (0)	33 (91.7)	3 (8.3)	0 (0)	36 (100)	0 (0)	0 (0)	
	EC	<i>C. albicans</i>	7 (100)	7 (100)	0 (0)	0 (0)	7 (100)	0 (0)	0 (0)	7 (100)	0 (0)	0 (0)
<i>C. albicans</i> A		5 (100)	5 (100)	0 (0)	0 (0)	5 (100)	0 (0)	0 (0)	5 (100)	0 (0)	0 (0)	
<i>C. albicans</i> B		2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	
<i>C. glabrata</i>		1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	
<i>C. tropicalis</i>		1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	
Total		9 (100)	9 (100)	0 (0)	0 (0)	9 (100)	0 (0)	0 (0)	9 (100)	0 (0)	0 (0)	
DS		<i>C. albicans</i>	22 (100)	17 (76.3)	5 (23.8)	0 (0)	20 (90.9)	1 (4.5)	1 (4.5)	22 (100)	0 (0)	0 (0)
	<i>C. albicans</i> A	20 (100)	15 (75)	5 (25)	0 (0)	18 (90)	1 (5)	1 (5)	20 (100)	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> B	2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. glabrata</i>	20 (100)	11 (57.9)	7 (36.8)	1 (0)	13 (65)	6 (30)	1 (5)	20 (100)	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. parapsilosis</i>	1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. tropicalis</i>	3 (100)	1 (25)	2 (50)	1 (0)	2 (66.7)	1 (33.3)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	
	Total	46 (100)	30 (65.3)	14 (30.4)	2 (4.3)	36 (78.3)	8 (17.4)	2 (4.3)	46 (100)	0 (0)	0 (0)	
PSC+EC	<i>C. albicans</i>	8 (100)	8 (100)	0 (0)	0 (0)	8 (100)	0 (0)	0 (0)	8 (100)	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> A	6 (100)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. albicans</i> B	2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	
	<i>C. glabrata</i>	3 (100)	1 (33.3)	2 (66.7)	0 (0)	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	
	Total	11 (100)	9 (81.8)	2 (18.2)	0 (0)	9 (81.8)	1 (9.1)	1 (9.1)	11 (100)	0 (0)	0 (0)	
	Total	<i>C. albicans</i>	136 (100)	121 (89)	14 (10.3)	1 (0.7)	125 (91.9)	8 (5.9)	3 (2.2)	134 (98.5)	2 (1.5)	0 (0)
		<i>C. albicans</i> A	113 (100)	99 (87.5)	13 (11.5)	1 (0.9)	104 (92)	7 (6.2)	2 (1.8)	111 (98.2)	2 (1.8)	0 (0)
<i>C. albicans</i> B		23 (100)	22 (95.6)	1 (4.3)	0 (0)	21 (91.3)	1 (4.3)	1 (4.3)	23 (100)	0 (0)	0 (0)	
<i>C. glabrata</i>		35 (100)	21 (60)	11 (31.4)	3 (8.6)	22 (62.9)	11 (31.4)	2 (5.7)	35 (100)	0 (0)	0 (0)	
<i>C. parapsilosis</i>		2 (100)	1 (50)	1 (50)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	1 (50)	0 (0)	
<i>C. tropicalis</i>		11 (100)	3 (27.3)	7 (63.6)	1 (9.1)	8 (72.7)	2 (18.2)	1 (9.1)	10 (90.9)	1 (9.1)	0 (0)	
<i>Saccharomyces</i>		3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	
Total		187 (100)	149 (79.7)	33 (17.6)	5 (2.7)	160 (85.6)	21 (11.2)	6 (3.2)	183 (97.9)	4 (2.1)	0 (0)	

PSC= Candidosis pseudomembranosa; EC= Candidosis eritematosa; DS= Estomatitis por dentadura; y PSC+EC= Seudomembranosa/eritematosa .
AMB= Anfotericina B; MCZ= Miconazol; y FCZ= Fluconazol.

TABLA 13. SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA POR GRUPO DE ESTUDIO, AMB, MCZ.

Grupo de estudio	Especies de levaduras	No. de aislamientos (%)	AMB			MCZ		
			S	I	R	S	I	R
Grupo I	<i>C. albicans</i>	32 (100)	32 (100)	0 (0)	0 (0)	30 (93.8)	2 (6.3)	0 (0)
Adultos VIH+/SIDA	<i>C. glabrata</i>	3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)
	<i>Saccharomyces</i>	3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)
	Total	38 (100)	38 (100)	0 (0)	0 (0)			
Grupo II	<i>C. albicans</i>	39 (100)	39 (100)	0 (0)	0 (0)	32 (82.1)	7 (17.9)	0 (0)
Adultos sin VIH	<i>C. glabrata</i>	29 (100)	29 (100)	0 (0)	0 (0)	16 (55.2)	11 (37.9)	2 (6.9)
	<i>C. tropicalis</i>	6 (100)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (16.7)	4 (66.7)	1 (16.7)
	<i>C. parapsilosis</i>	1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
	Total	75 (100)	75 (100)	0 (0)	0 (0)			
Grupo III	<i>C. albicans</i>	33 (100)	32 (97)	1 (3)	0 (0)	32 (97)	1 (3)	0 (0)
Niños VIH+/SIDA	<i>C. glabrata</i>	1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
	<i>C. tropicalis</i>	2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
	<i>C. parapsilosis</i>	1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)
	Total	37 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)			
Grupo IV	<i>C. albicans</i>	32 (100)	31 (97)	1 (3)	0 (0)	27 (84.4)	4 (12.5)	1 (3.1)
Niños sin VIH	<i>C. glabrata</i>	2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	0 (0)	1 (50)
	<i>C. tropicalis</i>	3 (100)	2 (66.7)	1 (33.3)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)
	Total	37 (100)			0 (0)			

TABLA 14. SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA POR GRUPO DE ESTUDIO, KTZ, ITZ Y FCZ.

Grupo estudio	de	Especies levaduras	de	No. de aislamientos (%)	KTZ			ITZ			FCZ		
					S	I	R	S	I	R	S	I	R
Grupo I Adultos VIH+/SIDA		<i>C. albicans</i>		32 (100)	23 (71.9)	6 (18.8)	3 (9.4)	26 (81.3)	6 (18.8)	0 (0)	31 (96.9)	1 (3.1)	0 (0)
		<i>C. glabrata</i>		3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)
		<i>Saccharomyces</i>		3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)	0 (0)	0 (0)
		Total		38 (100)									
Grupo II Adultos sin VIH		<i>C. albicans</i>		39 (100)	30 (76.9)	6 (15.4)	3 (7.7)	24 (61.5)	10 (25.6)	5 (12.8)	35 (89.7)	1 (2.6)	3 (7.7)
		<i>C. glabrata</i>		29 (100)	15 (51.7)	10 (34.5)	4 (13.8)	9 (31)	14 (48.3)	6 (20.7)	17 (58.6)	10 (34.5)	2 (6.9)
		<i>C. tropicalis</i>		6 (100)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (33.3)	3 (50)	1 (16.7)	5 (83.3)	1 (16.7)	0 (0)
		<i>C. parapsilosis</i>		1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
	Total		75 (100)										
Grupo III Niños VIH+/SIDA		<i>C. albicans</i>		33 (100)	18 (54.5)	7 (21.2)	8 (24.2)	21 (63.6)	8 (24.2)	4 (12.1)	31 (93.9)	2 (6.1)	0 (0)
		<i>C. glabrata</i>		1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
		<i>C. tropicalis</i>		2 (100)	1 (50)	1 (50)	0 (0)	1 (50)	1 (50)	0 (0)	2 (100)	0 (0)	0 (0)
		<i>C. parapsilosis</i>		1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)	0 (0)	0 (0)
	Total		37 (100)										
Grupo IV Niños sin VIH		<i>C. albicans</i>		32 (100)	26 (81.3)	6 (18.8)	0 (0)	25 (78.1)	5 (15.6)	2 (6.3)	28 (87.5)	4 (12.5)	0 (0)
		<i>C. glabrata</i>		2 (100)	1 (50)	1 (50)	0 (0)	0 (0)	1 (50)	1 (50)	1 (50)	1 (50)	0 (0)
		<i>C. tropicalis</i>		3 (100)	1 (33.3)	2 (66.7)	0 (0)	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)	1 (33.3)
		Total		37 (100)									

TABLA 15 SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA IN VITRO AL FLUCONAZOL Y VORICONAZOL DE ACUERDO A LA PRESENTACIÓN CLÍNICA DE CANDIDOSIS BUCAL.

Estadio clínico	Especies	No. de aislamientos (%)	FCZ M44P*			VCZ M44P*
			S	I	R	S
Colonización	<i>C. albicans</i>	71 (100)	69 (97.2) / 65 (91.5)	1 (1.4) / 2 (2.8)	1 (1.4) / 4 (5.6)	71 (100)
	<i>C. albicans</i> A	62 (100)	60 (96.8) / 56 (91.9)	1 (1.6) / 2 (3.2)	1 (1.6) / 4 (6.5)	62 (100)
	<i>C. albicans</i> B	9 (100)	9 (100)	0 (0)	0 (0)	9 (100)
	<i>C. glabrata</i>	6 (100)	5 (83.3) / 2 (33.3)	1 (16.7) / 4 (66.7)	0 (0)	6 (100)
	<i>C. parapsilosis</i>	1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)
	<i>C. tropicalis</i>	7 (100)	6 (85.7)	1 (14.3)	0 (0)	7 (100)
	Total	85 (100)	81 (95.3) / 74 (87.1)	3 (3.5) / 7 (8.2)	1 (1.2) / 4 (4.7)	85 (100)
PSC	<i>C. albicans</i>	28 (100)	27 (96.4) / 25 (89.3)	0 (0) / 1 (3.6)	1 (3.6) / 2 (7.1)	28 (100)
	<i>C. albicans</i> A	20 (100)	19 (95) / 18 (90)	0 (0) / 1 (5)	1 (5) / 1 (5)	20 (100)
	<i>C. albicans</i> sero B	8 (100)	8 (100) / 7 (87.5)	0 (0)	0 (0) / 1 (12.5)	8 (100)
	<i>C. glabrata</i>	5 (100)	5 (100) / 4 (80)	0 (0) / 1 (20)	0 (0)	5 (100)
	<i>S. cerevisiae</i>	3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)
	Total	36 (100)	35 (97.2) / 31 (86.1)	0 (0) / 2 (5.6)	1 (2.8) / 3 (8.3)	36 (100)
	EC	<i>C. albicans</i>	7 (100)	7 (100) / 6 (85.7)	0 (0)	0 (0) / 1 (14.3)
<i>C. albicans</i> A		5 (100)	5 (100) / 4 (80)	0 (0)	0 (0) / 1 (20)	5 (100)
<i>C. albicans</i> B		2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)
<i>C. glabrata</i>		1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)
<i>C. tropicalis</i>		1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)
Total		9 (100)	9 (100) / 8 (88.9)	0 (0)	0 (0) / 1 (11.1)	9 (100)
DS	<i>C. albicans</i>	22 (100)	20 (91) / 18 (81.9)	1 (4.5) / 3 (13.6)	1 (4.5)	22 (100)
	<i>C. albicans</i> A	20 (100)	19 (95) / 17 (85)	0 (0) / 2 (10)	1 (5)	20 (100)
	<i>C. albicans</i> B	2 (100)	1 (50)	1 (50)	0 (0)	2 (100)
	<i>C. glabrata</i>	20 (100)	20 (100)	0 (0)	0 (0)	20 (100)
	<i>C. parapsilosis</i>	1 (100)	1 (100)	0 (0)	0 (0)	1 (100)
	<i>C. tropicalis</i>	3 (100)	2 (66.7)	1 (33.3)	0 (0)	3 (100)
	Total	46 (100)	43 (93.5) / 41 (89.1)	2 (4.3) / 4 (8.7)	1 (2.2)	46 (100)
PSC+EC	<i>C. albicans</i>	8 (100)	8 (100)	0 (0)	0 (0)	8 (100)
	<i>C. albicans</i> A	6 (100)	6 (100)	0 (0)	0 (0)	6 (100)
	<i>C. albicans</i> B	2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)
	<i>C. glabrata</i>	3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)
	Total	11 (100)	11 (100)	0 (0)	0 (0)	11 (100)
Total	<i>C. albicans</i>	136 (100)	131 (96.3) / 123 (90.4)	2 (1.5) / 6 (4.4)	3 (2.2) / 7 (5.1)	136 (100)
	<i>C. albicans</i> A	113 (100)	109 (96.4) / 103 (91.2)	1 (0.9) / 4 (3.5)	3 (2.7) / 6 (5.3)	113 (100)
	<i>C. albicans</i> B	23 (100)	22 (95.7) / 20 (80.7)	1 (4.3) / 2 (8.7)	0 (0) / 1 (4.3)	23 (100)
	<i>C. glabrata</i>	35 (100)	34 (97.1) / 30 (85.7)	1 (2.9) / 5 (14.3)	0 (0)	35 (100)
	<i>C. parapsilosis</i>	2 (100)	2 (100)	0 (0)	0 (0)	2 (100)
	<i>C. tropicalis</i>	11 (100)	9 (81.8)	2 (18.2)	0 (0)	11 (100)
	<i>S. cerevisiae</i>	3 (100)	3 (100)	0 (0)	0 (0)	3 (100)
	Total	187 (100)	179 (95.7) / 165 (88.2)	5 (2.7) / 13 (7)	3 (1.6) / 9 (4.8)	187 (100)

PSC= Candidosis seudomembranosa; EC= Candidosis eritematosa; DS= Estomatitis protésica; y PSC+EC= Seudomembranosa/eritematosa. FCZ= Fluconazol; y VCZ= Voriconazol.

* 24 h / 48 h lecturas en mm.

AGRADECIMIENTOS

Jesús:
Cuando mi mente vague ya incierta, ya veloz,
Concédeme que escuche, Jesús, tu clara voz;
Animame si paro; inspírame también;
Reprendeme, si temo en todo hacer el bien.

Gracias a mi Familia por que ha representado mi mayor apoyo, en mi vida, en mi formación personal, he compartido grandes triunfos y dificultades donde siempre han estado, por todo ello y lo que representan para mi.

Papa, Mama, Claudia, Ernesto, Gerardo. Gracias

Gracias Ambar por ser una gran compañera, por todos tus bellos y sinceros sentimientos, por compartir conmigo este logro. Gracias Sr. Javier y Sra Yolanda por darme toda su confianza y cariño.

Gracias a mi tutor, cotutores y asesores, por todo el interes en mi trabajo, por sus enseñanzas y apoyo para realizarlo y poderlo concluir:

Dr. Luis Alberto Gaitán Cepeda.
Dra Francisca Hernández Hernández.
Dra. Laurie Ann Ximenez Fyvie.
Dra. Elba Rosa Leyva Huerta.

Gracias a todos mis amigos en el País Vasco; en especial a Guillermo por haberme recibido con ustedes, por su cariño, empeño y enseñanzas, siempre estaré recordando y esperando el momento para reunirme con ustedes: Rocío, Lola, María, Pilar, Natalia, Patxi y todo el equipo.

Gracias a todos mis profesores que me han dejado muchas enseñanzas, que forman parte de mi formación profesional y académica son parte importante de este trabajo:

Dra Laurie Ann Ximenez Fyvie.
CD. Carlos Espinoza García.
QFB Fernando Franco Martínez.
Mtro. Víctor Moreno Maldonado.

Gracias a mis amigos que siempre estan a mi lado, me respaldan, me escuchan y me aconsejan:

Federico Torres.
Eduardo Medina.
Alejandro Anaya.

Gracias a todos los miembros del jurado por sus valiosos comentarios, su disposición y tiempo.

A todos quienes han estado y a los que ya no estan a mi lado en mi formación, mi vida, dificultades y triunfos.

GRACIAS