



Universidad de Granada



Facultad de Odontología

TESIS DOCTORAL

**PREVALENCIA DE CULTIVOS POSITIVOS A
Candida spp EN LA CAVIDAD ORAL E
IDENTIFICACIÓN DE LAS MISMAS EN SUJETOS
INMUNOCOMPROMETIDOS.**

María Eugenia Romero Castaño

Granada, 2007.



Universidad de Granada



FACULTAD DE ODONTOLOGÍA

ALEJANDRO CEBALLOS SALOBREÑA, CATEDRÁTICO DE MEDICINA BUCAL DE LA FACULTAD DE ODONTOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA.

CERTIFICA:

Que los trabajos efectuados en la elaboración de la Memoria de Investigación titulada: **"PREVALENCIA DE CULTIVOS POSITIVOS A *Candida spp* EN LA CAVIDAD ORAL E IDENTIFICACIÓN DE LAS MISMAS EN SUJETOS INMUNOCOMPROMETIDOS"** presentada por D^a Maria Eugenia Romero Castaño, han sido realizados bajo mi coodirección y supervisión, reuniendo las condiciones académicas necesarias para su presentación, para optar al Grado de Doctor.

Y para que así conste donde proceda, firmo la presente en Granada a 25 de Abril de 2.007.

Fdo.: Prof. Alejandro Ceballos Salobreña

José Manuel Gándara Rey, Catedrático de Medicina Oral y Maxilofacial de la Facultad de Odontología de la Universidad de Santiago de Compostela

CERTIFICO

Que *Dña M^a Eugenia Romero Castaño* ha realizado bajo mi dirección el trabajo de investigación titulado: **“Prevalencia de cultivos positivos a *Candida spp.* en la cavidad oral e identificación de las mismas en sujetos inmunocomprometidos”** el cual reúne todos los requisitos exigidos por la normativa vigente para optar al grado de Doctor .

Y para que así conste a los efectos oportunos, firmo el presente certificado en Santiago de Compostela a veinticinco de Abril de 2007.



José Manuel Gándara Rey



CONSTANCIA

Por medio de la presente se hace constar que la alumna, **María Eugenia Romero Castaño**, con documento de identidad n° 25699128 – D, estuvo realizando el trabajo de Investigación titulado: **“Prevalencia de cultivos positivos a *Candida spp* en la cavidad oral e identificación de las mismas en sujetos inmunocomprometidos”** bajo mi codirección, la cual concluyo satisfactoriamente, reuniendo todos los requisitos necesarios para su defensa ante el tribunal que se elija para tal fin.

Cordialmente

“POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPIRITU”

Cd. Universitaria, D.F., 25 abril 2007-04-23

Dr. Luis Alberto Gaitán Cepeda
Codirector

INDICE

	PAG.
JUSTIFICACIÓN.....	6
INTRODUCCIÓN.....	8
OBJETIVOS DEL TRABAJO.....	30
MATERIAL Y METODOS.....	31
RESULTADOS.....	36
DISCUSIÓN.....	56
CONCLUSIONES.....	69
BIBLIOGRAFIA.....	70

JUSTIFICACIÓN

A partir de la década de los 80's con el advenimiento de técnicas agresivas de soporte de la vida, ha sido posible mantener en estado crónico a enfermedades que anteriormente eran consideradas como terminales, además de que pacientes en estado crítico tiene mayor esperanza de vida. Ya que muchas de estas terapias traen como consecuencia estados de inmunodeficiencia, se ha observado de manera concomitante un aumento en infecciones oportunistas. Dentro de las infecciones oportunistas más frecuentes se encuentra la Candidiasis oral.

Por otra parte, la infección por VIH también se caracteriza por la disminución continua de linfocitos T CD4, respuesta inmune celular, hasta su total depleción que se traduce en una inmunodeficiencia profunda (Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida). En todas las series publicadas de pacientes adultos y pediátrico VIH+/SIDA, la infección oportunista oral más frecuente es la Candidiasis oral, razón por la cual existe una gran información respecto a las diferentes especies de Candida que colonizan a esta población. Sin embargo, a partir de mediados de la década de los 90's, con la introducción a la terapia antiretroviral de los inhibidores de proteasa y su combinación con inhibidores de la transcriptasa inversa VIH, denominada Terapia Antiretroviral Altamente Activa (TAAA), se ha observado una disminución importante en las

infecciones oportunistas, incluyendo las orales específicamente la Candidiasis oral, de estos pacientes con la consiguiente mejoría de su estado general y calidad de vida en general. No habiéndose establecido si es que esta disminución esta asociada a una menor habilidad de colonizar mucosas por parte de Candida colonización o si es producto de un probable mejoramiento en la inmunocompetencia.

Por lo anterior pretendemos con este trabajo, establecer la prevalencia de portadores bucales de Candida spp en tres grupos de adultos con diferentes tipos de inmunodeficiencia, en comparación con un grupo de sujetos aparentemente sanos.

INTRODUCCIÓN

ASPECTOS BIOLÓGICOS DE *Candida spp.*

Candida es un hongo dimórfico, saprófito que, dependiendo del estado de inmunocompetencia del hospedador, produce tanto micosis superficiales como profundas. En general el género *Candida*, y en especial, la especie *C albicans* es con mucho el agente causal más frecuente de micosis humana. Causa desde alteraciones superficiales, como rash leve, hasta infección invasiva y rápidamente fatal en pacientes con inmunidad deprimida.

Aspectos históricos: Aunque desde 1839 se sugiere la naturaleza micótica de esta enfermedad, no es sino hasta 1940 cuando se describe el primer caso bien documentado de infección sistémica por *Candida* (1) y en 1940 el primer caso de endocarditis producida por *Candida* (2). En la época posterior a la segunda guerra mundial, con el comienzo del uso clínico de los antibióticos aparecieron manifestaciones de infecciones por *Candida* que no se conocían hasta entonces y aumento de forma abrupta la incidencia de todas las formas de candidiasis. El siguiente aumento en la prevalencia de infecciones candidales se asoció a la implementación de formas terapéuticas agresivas de soporte de la vida, tanto para pacientes geriátricos, como tratamiento antineoplásico (quimioterapia,

radioterapia), incremento en pacientes trasplantados y en la variedad de órganos con posibilidad de ser trasplantados, utilidad de material biocompatibles plásticos, entre otros (1,2). A partir de 1981 con el inicio de la pandemia de infección por VIH, se inició también un incremento drástico en los casos de candidiasis oral (2). Hasta el punto de que la presencia de candidiasis oral tiene un importante valor diagnóstico, pronóstico y como marcador de éxito o fracaso de terapia antiretroviral.

ESPECIES DE CANDIDA DE INTERÉS MÉDICO.

El género *Candida* comprende aproximadamente 200 especies, el más importante patógeno de los clasificados dentro del género *Candida* es *C. albicans*. Sin embargo, actualmente existe un aumento de la incidencia de infecciones documentadas por otras especies distintas de *C. albicans*, por ejemplo *C.tropicalis*, *C.lusitaniae*, *C.krusei*. Estas levaduras son productoras de micosis "oportunistas" en el organismo inmunodeprimido. La tabla 1 (tomada de Gerald P. Bodey: Candidiasis) muestra un intento de reflejar la actual taxonomía y nomenclatura de especies de *Candida*.

Tabla 1. Un sistema de clasificación de especies de *Candida* de interés médico

Reino superior:

Eukariota

Reino: Fungi (Mycota)

División: Blastomycetes

Orden: Cryptococcales

Familia: Cryptococcaceae

Género: *Candida*

Especies: *Candida albicans*

Candida albicans variedad *stellatoidea*

Candida catenulata

Candida ciferrii

Candida guilliermondii

Candida haemulonii

Candida kefyr

Candida krusei

Candida lipolytica

Candida lusitaniae

Candida norvegensis

Candida parapsilosis

Candida pulcherrima

Candida rugosa

Candida tropicalis

Candida utilis

Candida viswanathii

Candida zeylanoides

Las especies de *Candida* de interés clínico son principalmente:

1. *Candida albicans*: Especie más frecuentemente aislada de lesiones clínicas en el humano. Forma parte de la flora comensal del tracto gastrointestinal, vagina y mucosa bucal. Es el principal causante de infección micótica "oportunista". El espectro de las manifestaciones clínicas causadas por esta especie incluye muguet, vaginitis, infecciones cutáneas, afectación pulmonar (incluyendo "fungus ball"), enteritis, esofagitis, endocarditis, meningitis, absceso cerebral, artritis, queratomicosis, pielonefritis, cistitis, septicemia, afectación mucocutánea crónica, y algunas otras manifestaciones (2). Se han identificado dos serotipos de *C.albicans*, A y B (3,4). Estudios realizados desde 1961 a 1981 mostraron que el serotipo aislado de pacientes con candidiasis era el A (5). Sin embargo, estudios más recientes han demostrado que individuos inmunocompetentes hospitalizados y no hospitalizados tienen igual probabilidad de ser portadores de tipo A o B, pero individuos inmunocomprometidos (incluyendo los pacientes con SIDA) tienen

más del doble de posibilidades de estar infectados con el serotipo B (5).

Una situación especial presenta la variedad *stellatoidea* de *C.albicans*. Esta levadura ha pasado de ser considerada una especie independiente a una subespecie de *C.albicans*, actualmente es considerada como una variedad de *C. albicans*. Esta variedad se encuentra en los mismos nichos ecológicos que *C. albicans* y produce patología en humanos (ej. vaginitis y endocarditis).

2. *Candida catenulata*: esta especie rara vez produce patología en el hombre. Se ha aislado en heces y en la piel, ocasionando onicomicosis (2).

3. *Candida ciferrii*. Ha sido identificada como agente productor de onicomicosis (2).

4. *Candida guilliermondi*. Es el agente causal de endocarditis, particularmente en adictos a drogas intravenosas, causando también infección en pacientes inmunocomprometidos y en personas que ha sufrido procesos quirúrgicos. También se ha aislado de la piel (2).

5. *Candida haemulonii*. Se han descrito algunos casos de funguemia y de infección cutánea (2).

6. *Candida kefyr* (antes llamada *C. pseudotropicalis*). Ocasionalmente produce afectación en el hombre, se ha aislado de

muestras pulmonares y en las uñas. Ocasionalmente causa infecciones oportunistas (2).

7. *Candida krusei*. Esta especie de *Candida* está adquiriendo gran importancia como causante de infecciones oportunistas, produciendo afectación grave en pacientes neutropénicos y diarrea en niños. Cuando es invasiva se aísla más frecuentemente en casos de septicemia y endoftalmitis (6). Recientemente ha llamado la atención su resistencia a fluconazol (7).

8. *Candida lipolytica*. Es un infrecuente patógeno, probablemente requiere la presencia de un dispositivo intravascular para causar funguemia (8).

9. *Candida lusitanae*. Produce candidiasis en inmunodeprimidos, ha sido aislada en sangre, esputo, riñón y tracto gastrointestinal (5). Este hongo oportunista es cada vez más frecuente y, además, presenta resistencia a Anfotericina B (9).

10. *Candida norvengensis*. Recientemente se ha descrito como agente de enfermedad invasiva en paciente transplantados de riñón inmunocomprometidos (10). Se ha aislado en múltiples ocasiones en sangre, líquido peritoneal y secreciones respiratorias. Esta micosis no ha respondido a anfotericina B y flucitosina.

11. *Candida parapsilosis*. Esta especie se relaciona con el uso de drogas intravenosas y con catéteres intravasculares. Recientemente ha sido descrita como patógeno nosocomial produciendo funguemia, endocarditis, endoftalmitis, artritis séptica y

peritonitis (11). Existe una asociación marcada con colocación de prótesis y procedimientos invasivos. Igualmente ha sido descrita como contaminante de soluciones para alimentación parenteral, dispositivos de monitorización intravasculares y soluciones de irrigación oftálmica con resultado de infección en pacientes que reciben o usan estos procedimientos. En algunos hospitales ha desplazado a *C. albicans* como el más frecuente agente productor de candidiasis (12).

12. *Candida pulcherrima*. Rara vez produce patología, ha causado candidiasis invasiva en inmunocomprometidos (2).

13. *Candida rugosa*. Otra especie raramente patógena, ha sido descrita como productora de funguemia en pacientes con catéteres intravasculares y en inmunocomprometidos (2).

14. *Candida tropicalis*. Esta especie es la segunda más frecuentemente productora de candidiasis, en algunos centros es más prevalente que *C.albicans*, sobre todo en pacientes con leucemia (13).

15. *Candida utilis*. Esta especie ha sido usada en aplicaciones industriales (ej. crecimiento en etanol), recientemente ha sido descrita como agente causal de candidiasis en el hombre. Ha sido aislada en un paciente con SIDA y estaba asociada, aparentemente, con la colocación de un catéter (14).

16. *Candida viswanathii*. Esta especie ha sido descrita como agente causante de meningitis o, al menos, se ha aislado de líquido cefalorraquídeo (2).

17. *Candida zeylanoides*. Otro raro agente productor de candidiasis humana, ha sido descrito como causante de funguemia y artritis en inmunocomprometidos (15).

Finalmente merece mencionarse aquí el género *Torulopsis* del cual la especie más importante es *Torulopsis glabrata*, que produce micosis en inmunocomprometidos y es bien conocida su participación en infecciones del tracto urinario. Existe controversia entre dos escuelas, una de ellas defiende que debe incluirse el género *Torulopsis* dentro del género *Candida*, mientras otra tendencia no reconoce la unión de ambos géneros (2).

En los últimos años se han descrito aislamientos atípicos de *C. albicans* en pacientes infectados por el VIH (16,17), Sullivan y cols (18) han observado que muchos de estos aislamientos muestran una serie de características fenotípicas (hiperproducción de clamidosporas, serotipo A, crecimiento a 42°, etc, y genótípicas comunes, con las suficientes diferencias del resto de los aislamientos clínicos típicos de *C. albicans* como para formar una especie distinta denominado *C. Dubliniensis*. Esta especie se ha aislado principalmente en cavidad oral de personas VIH+, con candidiasis oral, aunque también se ha observado, aunque en menor

proporción, en aislamientos orales de personas sanas y en aislamientos de otras procedencias corporales (18,19,20). Se ha sugerido que *C. dubliniensis* forma parte de la microbiota oral, pero que posee potencial suficiente para causar candidiasis oral.(19). Esta especie ha demostrado una gran facilidad para adquirir resistencia al fluconazol cuando está expuesta de forma repetida a este antifúngico y se ha conseguido in vitro subcultivos estables resistentes a este antifúngico (21). Este hecho puede tener gran importancia clínica y ayudar a explicar el elevado número de fracasos terapéuticos con fluconazol en la candidiasis oral y de la resistencia micológica a este triazol que se observa en pacientes infectados por el VIH con episodios repetidos de candidiasis.

Diagnóstico de laboratorio de las candidiasis

Examen directo de la muestra

El examen directo de la muestra puede proporcionar información acerca de la cantidad de hongos presentes y de su apariencia morfológica, tal como la presencia de blastoconidias, pseudohifas e hifas (22). En los tejidos invadidos por *Candida* característicamente se observan blastoconidias y pseudohifas, aunque su sola presencia no implica diagnóstico de candidiasis, se requiere además de cultivo positivo a *Candida spp* la presencia de lesión clínica (22). Un examen en fresco de orina puede identificar *Candida* como la causa de infección del tracto urinario o de candidiasis renal. El significado de la candiduria sin embargo es controvertido y debe interpretarse en el contexto de los datos clínicos y de los factores de riesgo del paciente (23). El examen directo de un homogeneizado de tejido hepático de biopsia puede establecer el diagnóstico de hepatitis candidósica, particularmente cuando los cultivos de muestras de biopsia en esta enfermedad tienen bajo rendimiento (22).

Existen varios métodos disponibles para el examen en fresco, dependiendo del origen de la muestra. Entre ellos el hidróxido potásico, la tinción de Gram, la tinción de Wright-Giemsa, metamina

argéntica, ácido peryódico de Schiff, azul de metileno, blanco calcofluor y tinción de Papanicolau (22).

Cultivos y morfología de las colonias

Las especies de *Candida* generalmente crecen bien en los medios de cultivo comunes para hongos y bacterias. Entre ellos se incluyen el agar con glucosa de Saboureaud, agar sangre de oveja y agar sangre de caballo. Las colonias de especies de *Candida* crecen a una temperatura entre 25 a 37° C, tienen un aspecto liso o rugoso, y son de un color blanco o beige. Las colonias de *Candida*, especialmente *C. albicans*, muestran un borde finamente estrellado en el medio agar sangre, que corresponde a hifas u pseudohifas. Frecuentemente se produce variación de la morfología de las colonias por el fenómeno de cambio fenotípico, cuando se cultivan a 25° C (1,22).

ALBICANS ID (Bio-Merieux, Francia), es un medio de cultivo cromogéno, que se incuba a 37° en estufa, que identifica directamente las colonias de *C. albicans*, que aparecen teñidas de un color verde-azulado, las colonias que crezcan en este medio y no tengan este color, perteneceran a otras especies de cándidas.

Características microscópicas

Test del tubo germinal.- Permite distinguir *C. albicans* (tubo germinal positivo) de otras especies de *Candida* (tubo germinal negativo). El test se lleva a cabo mediante la suspensión de una pequeña porción de una colonia en suero bovino o en plasma de conejo o en un medio similar. La suspensión se incuba a 37° C durante 2 horas. *Candida albicans* forma tubos germinales en 2 a 3 horas mientras que otras especies de *Candida* los formarían después de 3 horas (22).

Agar extracto de maíz.- Identifica *C. albicans* por la formación de clamidosporas terminales en medio de extracto de maíz con Tween-80. El aspecto microscópico de otras especies de *Candida* se puede distinguir en este medio por el orden de las blastocodinas y el aspecto morfológico de las hifas y pseudohifas (22).

Determinaciones bioquímicas.- La determinación bioquímica de las especies de *Candida* se basa en el patrón de asimilación o fermentación de distintos carbonohidratos (22).

Métodos de diagnóstico en investigación

Recientes avances en la purificación de antígenos, producción de anticuerpos monoclonales, mapeo de epitopos, técnicas de DNA recombinante y la metodología de la reacción en cadena de la

polimerasa, ha abierto la posibilidad de nuevos avances en la detección de la infección invasiva fúngica. Sin embargo estos métodos están todavía en fase de investigación (24).

Asimilación de fuentes de carbono mediante el sistema comercial
API ATB ID 32 C.

La prueba comercial API ATB ID 32 C (API-bioMérieux) es un método de identificación de levaduras. Consiste en una galería de plástico con 32 cúpulas que contienen los siguientes substratos carbonados deshidratados: sorbitol, D-xilosa, ribosa, glicerol, ramnosa, palatinosa, eritritol, melobiosa, glucuronato, melecitosa, gluconato, levulinato, glucosa, sorbosa, glucosamina, esculina, galactosa, actidióna, sacarosa, N-acetil-glucosamína, D-L-lactato, L-arabinosa, celobiosa, rafinosa, maltosa, trehalosa, 2-ceto-gluconato, α -metil-D-glucósido, manitol, lactosa e inositol y, por último, una cúpula sin substrato como control negativo.

Para la preparación del inóculo de levaduras, se tomaba una pequeña cantidad de un cultivo de 24-48 h en agar de Saboureaud y se suspendía en 2 ml de agua destilada estéril, ajustándose su concentración a una turbidez igual a 2 en la escala de McFarland con un densitómetro ATB 1550 (bioMérieux). Posteriormente, se transfieren 250 ml de esta suspensión a una ampolla del medio C que estaba compuesto por 5 g de sulfato de amonio, 0,31 g de

fosfato monopotásico, 0,45 g de fosfato dipotásico, 0,92 g de fosfato disódico, 90.1 g de cloruro sódico, 0,05 g de cloruro cálcico, 0,2 g de sulfato de magnesio, 0,005 g de histidina, 0,02 g de triptófano, 0,02 g de metionina, 0,5 g de agar, 1 ml de solución de vitaminas, 10 ml de solución de oligoelementos y 1.000 ml de agua destilada, ajustado a un pH final de 6,5 a 6,7. Seguidamente se inocula cada cúpula con 135 ml de la suspensión celular incluida en el medio C. Se cubre la galería con una tapa de plástico y se incuba a 30°C durante un tiempo mínimo de 48 h. Tras el período de incubación se realiza la lectura de cada galería de un modo automático con el lector ATB 1520 (bioMérieux), que busca la presencia de crecimiento en cada cúpula. El lector transmite los datos a un ordenador que los interpreta con el programa APILAB ID 32, e identifica cada aislamiento, asignándole un código numérico de diez dígitos.

ETIOPATOGENIA.

Las especies de *Candida* pueden ser comensales normales de la mucosa oral. Odds (25) en 1988 recopiló y analizó gran parte de la literatura publicada hasta entonces acerca de la presencia de *Candida* en la cavidad oral. En adultos normales encuentra que la frecuencia de portadores de *Candida* iba desde el 2% al 69%, según los diferentes trabajos (26 -29). Ceballos y cols. (30) encontraron una prevalencia de cultivos positivos a *Candida* en la población normal del 7%. La naturaleza de comensal de este organismo implica primero, que la inmensa mayoría de las candidiasis orales son endógenas en su origen y segundo, la dificultad en la total erradicación del organismo del huésped mediante la terapia antifúngica (31,32).

Para que este hongo se convierta en patógeno de la cavidad oral tienen que coincidir una serie de factores tanto sistémicos como locales (33)

A) FACTORES SISTEMICOS

- Infancia, vejez, embarazo.
- .Alteraciones endocrinas: Diabetes mellitus, hipotiroidismo.

-Trastornos nutricionales: Deficiencias en hierro, folatos y vit. B12.

-Enfermedades malignas: Leucemia aguda, agranulocitosis.

-Defectos de inmunidad: SIDA, aplasia tímica, utilización de corticosteroides e inmunosupresores.

El lactante presenta un sistema inmunológico inmaduro por lo que es más susceptible a el desarrollo de procesos infecciosos oportunistas.

Por su parte el anciano presenta una disminución fisiológica de la producción salival, que unido a otros factores pueden justificar la presencia de candidiasis. Entre estos factores se encuentra: pérdida de la dimensión vertical por el desgaste de sus dientes naturales o por la abrasión de los artificiales, así como por la perdida de los mismos que facilita un babeo comisural y retención salival.

El embarazo predispone a unos cambios hormonales que favorecen el desarrollo de estos microorganismos.

Se ha achacado al medio azucarado del diabético el crecimiento de la cándida. Ahora bien, nuestros resultados no avalan esta teoría ya que la proporción de positividades en cultivos a la

cándida en sujetos diabéticos presenta pocas diferencias con la población control (30).

Las leucemias, especialmente las formas agudas, por la baja de defensas que presentan, favorecen el desarrollo de la cándida. De igual forma el Sida y los inmunodeprimidos por transplantes que están sometidos a medicación especialmente con azatioprina, cuyo efecto es selectivo frente a los linfocitos T, padecen con mayor frecuencia estas enfermedades.

B) FACTORES LOCALES

- Xerostomía: S. Sjögren; radioterapia, empleo de drogas, etc.
- Antibióticos de amplio espectro.
- Corticoides.
- Dieta rica en carbohidratos.
- Leucoplasia. Cáncer oral.
- Prótesis (estomatitis protética).
- Tabaco fumado.

La sequedad de boca, cualquiera que sea su causa, es un condicionante local para el desarrollo de la candidiasis oral. La población drogodependiente y los sujetos que toman sedantes padecen una disminución de la tasa de saliva. En nuestro medio, la

población drogodependiente tiene una producción de saliva inferior a la población normal (34).

La utilización de antibióticos de amplio espectro es un factor predisponente por la destrucción de la flora, alterando el equilibrio de la misma. De igual forma, los corticoides actúan disminuyendo la resistencia al huésped.

Tanto unos factores como otros son necesarios, pero aún no se conoce el mecanismo por el que la candida se desarrolla en un momento dado.

CANDIDIASIS ORAL E INMUNODEFICIENCIA.

Ha sido perfectamente establecido que los sujetos inmunodeprimidos son más susceptibles a la colonización microbiana que los sujetos inmunocompetentes.

Desde las primeras descripciones del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), llamó la atención la alta frecuencia de manifestaciones orales que presentaban las personas afectadas del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) (35,36). Por ejemplo, el primer paciente documentado con SIDA tenía candidiasis oral (36). Las lesiones orales, en concreto la

candidiasis oral, han sido aspectos relevantes de la enfermedad tanto desde el punto de vista clínico, diagnóstico y predictivo (37 - 42).

Por ejemplo, en hombres jóvenes el desarrollo de la candidiasis oral sin una causa local, tal como xerostomía, o terapia con antimicrobianos, corticosteroides, u otras drogas inmunosupresoras, es altamente sugestivo de la infección por VIH (43,44).

La clasificación de la OMS de 1992 distingue 2 tipos de candidiasis: la candidiasis eritematosa y la candidiasis pseudomembranosa. La candidiasis hiperplásica se ha eliminado de la clasificación (45), si bien nosotros preferimos seguir en el presente trabajo la clasificación establecida por Holmstrup y Axell en 1990 (46) que sí incluye dicha forma clínica por la importancia de la misma. Scully y cols. (43), refieren que la forma pseudomembranosa de la candidiasis puede ser la manifestación oral más común de la infección por VIH.

Los criterios de diagnóstico (45) son:

- Candidiasis eritematosa:

Criterio de presunción: Áreas rojas usualmente localizadas en el paladar y dorso de la lengua pero ocasionalmente en mucosa bucal. Pueden verse manchas y placas blancas pero no suelen ser llamativas.

Criterio definitivo: Hasta el momento no hay un criterio definitivo para esta entidad. Sin embargo el cultivo positivo a *Candida spp* y/o la respuesta a la terapia antifúngica puede ayudar a establecer el diagnóstico.

- Candidiasis pseudomembranosa:

Criterio de presunción: Manchas o placas blancas o amarillas que pueden localizarse en cualquier parte de la cavidad oral y pueden eliminarse dejando una superficie eritematosa que puede sangrar.

Criterio definitivo:

1) El principal criterio determinante es la respuesta de las lesiones a la terapia antifúngica.

2) Los test para la presencia de *C. albicans* no son esenciales para el diagnóstico, aunque pueden mejorarlo particularmente en casos de resistencia a la terapia antifúngica. Estos test pueden incluir frotis o cultivo.

- Candidiasis Hiperplásica:

Criterio de presunción: Placas blancas firmes muy adheridas de color blanco, a veces sobre un fondo eritematoso ocupando cualquier zona de la cavidad bucal. Suelen ser indoloras.

Criterio definitivo: Similar a las formas pseudomembranosas.

Por otra parte, la implantación de terapias agresivas de sostenimiento de la vida ha contribuido a alargar la vida de pacientes que hace dos décadas eran considerados como pacientes terminales. En muchas ocasiones estas terapias de soporte de la vida tienen como efecto colateral cambios en los estados de inmunocompetencia de los sujetos, tanto por efecto sistémico como local. Eso ha traído como consecuencia un incremento notable de enfermedades oportunistas en donde destaca notablemente las infecciones por *Candida spp* (47). La incidencia de candidemias intrahospitalarias se ha incrementado hasta un 500%, habiéndose observado de igual forma un incremento en Candidiasis producidas por especies no-albicans de este hongo (47, 48, 49). Se considera la candidemia como la cuarta causa mas comun de infección hematológica intrahospitalaria (50), la tasa de mortalidad atribuible a candidiasis séptica aguda es alta llegando hasta el 50% (infecciones micóticas invasivas) (50, 51). De especial interés para el presente trabajo son los pacientes que han recibido quimioterapia y/o radioterapia y como esta característica se asocia a colonización oral

por Candida y que se ha publicado como un alto riesgo de portar Candida oralmente (47). En el caso de pacientes que han recibido quimioterapia se ha reportado no solamente una alta prevalencia de portadores de Candida sino que además que esta prevalencia se incrementa en relación al tiempo de quimioterapia (52).

OBJETIVOS DEL TRABAJO

Pretendemos en una serie de sujetos con inmunosupresión de diferente origen:

Enfermos sometidos a radioterapia

Enfermos sometidos a quimioterapia

Enfermos con infección por el V.I.H.

1º) Investigar la presencia de cultivos positivos a *Candida spp.*

2º) Conocer las diferentes especies de *Candida* encontradas en los cultivos

3º) Interrelacionar los datos obtenidos con un grupo de sujetos sanos que utilizaremos como grupo control, para conocer la influencia de los diferentes grupos de estudio en la aparición de la colonización por *Candida spp.*

MATERIAL Y METODOS.

Se realizó un estudio descriptivo, analítico, observacional, transversal, comparativo, para establecer las prevalencias de portadores de *Candida spp* en tres poblaciones con inmunodeficiencias diferentes en comparación con un grupo aparentemente sano, inmunocompetente.

Para tal fin se analizaron tres poblaciones de estudio:

Grupo VIH: Formado por 160 sujetos VIH+/SIDA provenientes del Departamento de Medicina Interna, Hospital General "Carlos Haya", Málaga, España. Todos estos pacientes estuvieron bajo terapia antiretroviral altamente activa, por lo menos los 6 meses anteriores a su inclusión en el presente trabajo. Para ser incluidos en el protocolo debieron haber mostrado total seguimiento del tratamiento antiretroviral aplicado. Posteriormente, se tomaron del archivo médico correspondiente, los siguientes datos: Edad, género, vía de contagio, cifra de linfocitos CD4, carga viral, tipo de tratamiento, tratamientos antimicóticos profilácticos o curativos.

Grupo Quimioterapia: Formado por 100 pacientes, provenientes del departamento de Oncología, del Hospital Xeral, Santiago de Compostela. Todos estos pacientes estuvieron sometidos a quimioterapia durante los tres meses anteriores a su incorporación al estudio, como parte de su tratamiento por diagnóstico de neoplasias malignas. En el caso del Grupo Quimioterapia se tomaron los siguientes datos: Edad, género, diagnóstico de base, tipo de tratamiento, tiempo bajo tratamiento (ciclos de quimioterapia).

Grupo Radioterapia: Formado por 110 pacientes provenientes del departamento de Oncología, del Hospital Xeral, Santiago de Compostela, España. Todos estos pacientes estuvieron sometidos a radioterapia de cabeza y cuello, durante los tres meses anteriores a su incorporación al estudio, como parte de su tratamiento por diagnóstico de neoplasias malignas. En el caso del Grupo Radioterapia se tomaron los siguientes datos: Edad, género, diagnóstico de base, tipo de tratamiento, tiempo bajo tratamiento.

Grupo control: Formado por 100 sujetos, provenientes del servicio de admisión de la Facultad de Odontología, Universidad de Granada, Granada, España. Para ser incluidos en el presente estudio los pacientes deberían cubrir los siguientes criterios de inclusión: ser aparentemente sanos, así considerados a través de la historia clínica y examen visual, no presentar lesión clínica compatible con alguna

de las variedades clínicas orales de candidiasis al momento de su examen oral o cuya historia clínica reflejara candidiasis oral en los dos últimos meses previos al estudio, o algún tipo de inmunosupresión en los seis meses inmediatos anteriores a su incorporación al estudio o haberse sometido a antibioticoterapia por cualquier motivo en un período menor a 2 meses previos a su incorporación al estudio. Se tomaron los siguientes datos: edad y género.

A todos los sujetos de todos los grupos se les pidió su consentimiento informado para participar de manera voluntaria en el presente estudio.

A todos los sujetos de los grupos de estudio se les realizó un exámen oral. En el caso del Grupo VIH se siguieron los criterios diagnósticos para lesiones orales asociadas a infección por VIH, propuestas por la EC-Clearinghouse, CDC-Atlanta, Estados Unidos – Organización Mundial de la Salud (45). En el caso de los pacientes del Grupo Quimioterapia, Radioterapia y Control se siguieron los parámetros diagnósticos propuestos por Axel y Holmstrup. La presencia o ausencia de lesiones orales fueron anotadas en una base de datos diseñada ex-profeso.

A todos los sujetos de todos los grupos se les tomó una muestra para cultivo de la cavidad bucal total con hisopo estéril. Dicha muestra fue sembrada en un medio de cultivo Sabouraud-cloramfenicol e incubada a 37°C durante 24-48 horas. Si al término de este tiempo no aparecen colonias, el cultivo se considera negativo. De los cultivos positivos obtenidos se identificaron morfológica y bioquímicamente los pertenecientes al género *Candida*, adicionalmente se utilizó para tal fin la prueba de producción de tubos germinales según la técnica de Mackenzie. Los cultivos obtenidos fueron resembrados en Agar Harina de Maiz-Tween 80 para la determinación de los aspectos morfológicos microscópicos característicos de *Candida* (formación de micelio o pseudomicelio, producción de clamidosporas y blastoconidias). La determinación de las especies de *Candida* se realizó utilizando el sistema APID 32C AUX (® Biomeriux). Los investigadores encargados de realizar las pruebas microbiológicas no conocieron el grupo demográfico de procedencia de las cepas testadas.

No se pudo determinar las *Candida spp* en el grupo de sujetos sometidos a quimioterapia, por un deterioro que sufrieron las muestras que podían falsear los resultados.

Con los datos así obtenidos, en cada uno de los grupos de estudio se estableció la prevalencia de *Candida spp.*, siguiendo la

fórmula $P=c/n\%$; donde P= prevalencia; c= números de casos diagnosticados; n= número de pacientes observados; expresado en por ciento.

Para establecer si existen diferencias, estadísticamente significativas entre la prevalencia de *Candida spp* en los diferentes grupos demográficos, se realizó un análisis bivariado comprobándose con la prueba de X², exacta de Fisher, con un nivel de confianza del 95% ($p<0.05$), y utilizando los programas EPI-INFO5 y SPSS para tal fin.

RESULTADOS.

DATOS DEMOGRAFICOS DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO.

El grupo control estuvo compuesto por 100 sujetos, 49 varones (promedio de edad 57.5 años \pm 13.2 con un rango de edad de 20 - 68 años), y 51 mujeres, con un promedio de edad de 53.5 años (\pm 14.1; rango 19 – 66 años).

El grupo Quimioterapia estuvo compuesto formado por 100 pacientes, 39 hombres (promedio de edad 60 años \pm , 13, con un rango de edad de 25 a 83 años) y 61 mujeres, promedio de edad 56.6 años (\pm 13; rango de edad 36 – 86 años), mientras que el

Grupo Radioterapia estuvo formado por 110 pacientes, con un promedio de edad de 56.5 años \pm 11.1 años y un rango de edad de 25 a 89 años. De los 110 pacientes sometidos a radioterapia 89 fueron varones (promedio de edad 56.8 años \pm 11.1; rango de edad de 25 a 89 años) y 21 mujeres (promedio de edad 54.8 años \pm 13.9; rango de edad de 26 a 74 años).

El grupo VIH estuvo compuesto por 100 pacientes VIH+/SIDA, 60 varones (41.1 ± 7.9 ; rango de edad de 22 – 75 años); 40 mujeres, con un promedio de edad de 36.5 años (d.e. ± 6.6 años; rango 20 – 57 años). En relación a la vía de contagio la distribución fue la siguiente 33 fueron Adictos a las Drogas por Vía Parenteral (ADVP); 26 fueron Varones que han tenido Sexo con Varones, 34 fueron heterosexuales, 4 hemotrasfundidos y en 3 sujetos no se pudo comprobar la vía de contagio (TABLA N° 1).

		CONTROL N = 100	QUIMIO N = 100	RADIO N = 110	VIH N = 100
EDAD		38 \pm13.5 (19-68)	58.3 \pm13.2 (25-86)	56.5 \pm11.1 (25-89)	41.1 \pm 7.9 (22 – 75)
GENERO	♂	49	39	89	60
	♀	51	61	21	40

TABLA 1.- DISTRIBUCIÓN DEMOGRÁFICA DE LOS GRUPOS DE ESTUDIO.

Características Inmunológicas y Viroológicas de los pacientes VIH/SIDA.

Estado Inmunológico: De los 100 pacientes VIH/SIDA, 33 (20 varones y 13 mujeres) pertenecieron al grupo I (valores linfocitos CD4 >500 /mL), 48 presentaron cifras de linfocitos CD4

≥200 - ≤ 500, de los cuales 28 fueron varones y 20 mujeres. Por otra parte 19 pacientes VIH/SIDA tuvieron valores de linfocitos CD4 ≤200/mL. Con respecto a la carga viral, 66 (37 varones; 29 mujeres) presentaron cargas virales indetectables; 22 presentaron cargas virales ≤10,000 copias/mL, de los cuales 15 fueron varones y 7 mujeres. Los pacientes con cargas virales ≥ 10,000 copias/mL fueron 12 (8 varones y 4 mujeres) (TABLA N° 2).

N		
ESTATUS INMUNOLOGICO	ESTADIO I	33
	ESTADIO II	48
	ESTADIO III	19
ESTATUS VIROLÓGICO	CVI	66
	GRADO I	22
	GRADO II	12

TABLA 2.- DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES VIH/SIDA EN RELACIÓN A SU ESTADO INMUNOLÓGICO Y VIROLÓGICO.

RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS.

1) Prevalencia de Portadores de *Candida* spp.

Grupo Control:

En el caso del grupo control 6 sujetos presentaron cultivos positivos a *Candida* para una prevalencia del 6%. La distribución por género arrojó que de los 6 pacientes positivos a *Candida* 5 fueron varones y 1 mujer. La prevalencia por género de tal manera se estableció en 10,2% para el género masculino y de 2.0% para el femenino.

Grupos de Estudio:

Grupo Quimioterapia: De los 100 pacientes, 64 presentaron cultivos positivos a *Candida spp* para una prevalencia del 64%. En relación al género se identificaron 26 varones y 38 mujeres con cultivos positivos a *Candida*. La prevalencia por género obtenida fue entonces de 66.6% para los varones y de 62.2 para las mujeres. (62.2% de prevalencia).

Grupo Radioterapia: De los 110 pacientes que constituyeron este grupo de estudio se aislaron 34 cultivos positivos a *Candida spp* para una prevalencia de 30.9%. En relación al género 27 varones fueron positivos, mientras que en las mujeres se identificaron 7

positivas a *Candida*. De tal forma que la prevalencia obtenida por género fue 24.5 % para los varones y de 33.3% para las mujeres.

Grupo VIH/SIDA: De los 100 pacientes pertenecientes a este grupo se obtuvieron 21 cultivos positivos para una prevalencia del 21%. En relación al género 13 varones presentaron cultivos positivos mientras que en 8 mujeres se obtuvieron cultivos positivos a *Candida spp*. La prevalencia entonces por género fue de 21.7% para los varones y del 20% para las mujeres. En relación a la vía de contagio los pacientes ADVP presentaron una prevalencia del 27.3% esto es se obtuvieron 9 cultivos positivos provenientes de este subgrupo poblacional. Del subgrupo de VSV se obtuvieron 3 cultivos positivos para una prevalencia del 11.5%; mientras que del subgrupo Heterosexual se obtuvieron 7 cultivos (prevalencia 20.6%). En relación a el estado inmunológico la prevalencia de portadores de *Candida spp* se distribuyó de la siguiente manera: en el grupo de pacientes con cifras de ≥ 500 linfocitos CD4/mL se encontraron 6 pacientes con cultivo positivo para una prevalencia del 18.2%. En el grupo con estadio II (cifras de linfocitos CD4 ≤ 500 - ≥ 200 /mL) se aislaron 7 cultivos positivos para una prevalencia del 14.6%, mientras que los pacientes con inmunodeficiencia severa (cifras de linfocitos CD4 ≤ 200 /mL) se identificaron 8 cultivos positivos (prevalencia 42.1%). En cuanto a el estado virológico se encontraron los siguientes datos respecto a portadores de *Candida spp*: el grupo de pacientes con carga viral indetectable presentaron 12 cultivos

positivos para una prevalencia del 18.2%; el grupo de pacientes con cargas virales menores de 10,000/mL presentaron 6 cultivos positivos para una prevalencia del 27.3%, mientras que los pacientes con cargas virales $\geq 10,000$ copias/mL presentaron una prevalencia de portadores de *candida spp* del 25%, esto es se observaron 3 cultivos positivos (TABLA N° 3).

TABLA 3.- PREVALENCIA DE ACARREADORES DE CANDIDA SPP EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO.

GRUPO DE ESTUDIO	SUBGRUPO		POSITIVOS	PREVALENCIA (%)	
CONTROL	TOTAL		6	6	
	GENERO	♂	5	10.2	
		♀	1	2	
QUIMIOTERAPIA	TOTAL		64	64	
	GENERO	♂	26	66.6	
		♀	38	62.2	
RADIOTERAPIA	TOTAL		34	30.9	
	GENERO	♂	27	30.3	
		♀	7	33.3	
VIH/SIDA	TOTAL		21	21	
	GENERO	♂	13	21.7	
		♀	8	20	
	ESTATUS INMUNOLOGICO	ESTADIO I		6	18.2
		ESTADIO II		7	14.6
		ESTADIO III		8	42.1
	ESTATUS VIROLOGICO	CVI		12	18.2
		GRADO 1		6	27.3
		GRADO 2		3	25

2).- Prevalencia de Especies de *Candida* por grupo de estudio.

Grupo Control: Los 6 cultivos positivos aislados en este grupo correspondieron a la especie *Albicans*, 5 provenientes de pacientes varones y uno de una paciente femenina.

Grupos de Estudio:

Grupo Radioterapia: De los 34 cultivos positivos se aislaron 45 especies. El número de especies es mayor que el número de pacientes positivos ya que existieron 11 sujetos que presentaron 2 especies diferentes de manera concomitante. De acuerdo a su fenotipificación las especies identificadas correspondieron a 34 cultivos de *C albicans*, correspondientes a el 75.6% del total de especies identificadas. 3 cultivos fueron identificados como *C tropicalis* (6.7% del total de cultivos); 2 cultivos correspondieron a *C glabrata* (4.4% de las especies identificadas) y 6 (13.3% del total) cultivos fueron categorizados como *C albicans* atípica. De tal forma que del 100% de aislamientos (n = 45), correspondió a la variedad *C albicans* el 75.6% y a las variedades no-*albicans* el 24.4%.

De acuerdo a las variables demográficas en relación a las especies de *Candida* la distribución fue la siguiente:

C albicans: Se aislaron 34 cultivos positivos de esta especie las cuales en función del género se distribuyeron de la siguiente forma 30 cultivos en hombres y 7 en mujeres.

C tropicalis: De los 3 cultivos positivos de *C tropicalis* 2 se provenían de varones y 1 de una paciente femenina.

C glabrata: Las dos especies aisladas de *C glabrata* provenían de 2 pacientes varones.

C albicans atípica: De los 6 cultivos identificados como *C albicans atípica* 5 correspondieron a varones y una a un paciente femenino.

Grupo VIH+/SIDA: Se identificaron 21 pacientes con cultivos positivos a *Candida spp.* De acuerdo a su fenotipificación las especies encontradas fueron 14 cultivos de *C albicans*, correspondiente a el 51.8% del total de cultivos; 7 cultivos de *C glabrata*, correspondiente a el 25.9% del total de cultivos; 3 cultivos de *C tropicalis*, correspondiente a el 11.1% del total de cultivos; 2 cultivos de *C sake*, correspondiente a el 7.4% del total de cultivos y un cultivo de *C pulcherrima*, correspondiente a el 3.7% del total de cultivos. En total se identificaron 27 cultivos. El número de cultivos por especie es mayor que el número de pacientes positivos ya que en 5 pacientes se identificaron dos especies de manera conjunta.

De acuerdo a las variables demográficas en relación a las especies de *Candida* la distribución fue la siguiente:

C. albicans: Se aislaron 14 cultivos de esta especie las cuales en función de los grupos demográficos y de estudio se distribuyeron de la siguiente manera: por género se encontró la distribución fue igual 7 (50%) cultivos en varones y 7 (50%) cultivos en mujeres. De acuerdo a la vía de contagio de los 14 cultivos de *C. albicans*; 5 (35.7%) provinieron de sujetos ADVP, 3 (21.4%) de VSV, 4 (28.5%) de Heterosexuales y 2 de pacientes hematológicos/desconocidos. En el caso de el estado inmunológico de los 14 (100%) cultivos el 35.7% provino de pacientes (5) con inmunosupresión leve (linfocitos CD4 \geq 500/mL); 4 (28.5%) sujetos con inmunosupresión moderada (linfocitos CD4 \geq 200 - \leq 500/mL) y de 5 (35.7%) sujetos con inmunosupresión severa (linfocitos CD4 \leq 200/mL). En relación al estado virológico 7 (50%) de los 14 cultivos positivos a *C. albicans* provenían de sujetos con carga viral indetectable; el 35.7%, es decir 5 cultivos, provino de pacientes pertenecientes al grupo con cargas virales \leq 10,000 copias, y el restante 14,2% correspondió a dos cultivos positivos de el grupo de pacientes con cargas virales \geq 10,000 copias/mL.

C. glabrata: Se aislaron 7 cultivos de esta especie todos provenientes de varones. De los 7 cultivos de *C. glabrata*; 3 (42.8%) provinieron de sujetos ADVP, 2 (28.5%) de Heterosexuales y 2 (28.5%) de

pacientes hematológicos/desconocidos. En el caso de el estado inmunológico de los 7 (100%) cultivos el 14.2% provino de 1 paciente con inmunosupresión leve (linfocitos CD4 ≥ 500 /mL); 3 (42.8%) sujetos con inmunosupresión moderada (linfocitos CD4 ≥ 200 - ≤ 500 /mL) y de 3 (42.8%) sujetos con inmunosupresión severa (linfocitos CD4 ≤ 200 /mL). En relación al estado virológico, 5 (71.4%) de los 7 cultivos positivos a *C glabrata* provenían de sujetos con carga viral indetectable; el 28.5%, es decir 2 cultivos, provino de pacientes pertenecientes al grupo con cargas virales $\leq 10,000$ copias. No se observaron portadores de *C glabrata* en pacientes mujeres, o en homosexuales ni en sujetos con cargas virales $\geq 10,000$ copias/mL.

C tropicalis: Se identificaron 3 aislamientos correspondientes a esta especie provenientes de 2 varones y 1 mujer; con las siguientes vías de contagio 2 ADVP, 1 VSV. De estos 3 pacientes 1 presentó inmunosupresión moderada, y 2 inmunosupresión severa; 1 presentó carga viral indetectable, 1 con cargas virales $\leq 10,000$ copias/mL y 1 con carga viral $\geq 10,000$ copias/mL.

C sake: Se identificaron 2 aislamientos correspondientes a esta especie provenientes de 1 varones y 1 mujer; 1 ADVP, 1 heterosexual; 1 con inmunosupresión leve, y 1 inmunosupresión moderada; los 2 pacientes presentaron cargas virales indetectables.

C pulcherrima: Se obtuvo 1 aislamientos correspondientes a esta especie provenientes de 1 varones ADVP, con inmunosupresión severa y carga viral $\geq 10,000$ copias/mL. (TABLA N° 4)

			ALB	TRO	GLA	ATI	PUL	SAK
CONTROL	TOTAL N = 6		6					
	GENERO	♂	5					
		♀	1					
RADIOTERAPIA	TOTAL N = 45		34 75.6%	3 6.7%	2 4.4%	6 13.3%		
	GENERO	♂ N= 39	30 76.9%	2 5.12%	2 5.12%	5 12.8%		
		♀ N= 9	7	1		1		
VIH/SIDA	TOTAL N= 27		14 51.8%	3 11.1%	7 25.9%		1 3.7%	2 7.4%
	GENERO	♂ N = 18	7 38.8%	2 11.1%	7 38.8%		1 5.5%	1 5.5%
		♀ N= 9	7 77.7%	1 11.1%				1 11.1%
	STATUS INMUNOLOGICO	ESTADIO I N = 7	5 71.4%		1 14.2%			1 14.2%
		ESTADIO II N = 9	4 44.4%	1 11.1%	3 33.3%			1 11.1%
		ESTADIO III N = 11	5 45.4%	2 18.1%	3 27.2%		1 9%	
	STATUS VIROLOGICO	CVI N = 15	7 46.6%	1 6.6%	5 33.3%			2 13.3%
		GRADO 1 N = 8	5 62.5%	1 12.5%	2 25%			
		GRADO 2 N = 4	2 50%	1 25%	CERO		1 25%	

TABLA 4.- DISTRIBUCIÓN DE LAS DIFERENTES ESPECIES DE CANDIDA AISLADAS EN LOS DIFERENTES GRUPOS DE ESTUDIO.

Como resumen, exponemos los resultados tanto de portadores en la poblacion estudiada de *Candida SPP.* (GRAFICO N°1), como de la distribucion de las especies de *Candida* en los grupos de estudio. (GRAFICO N° 2)

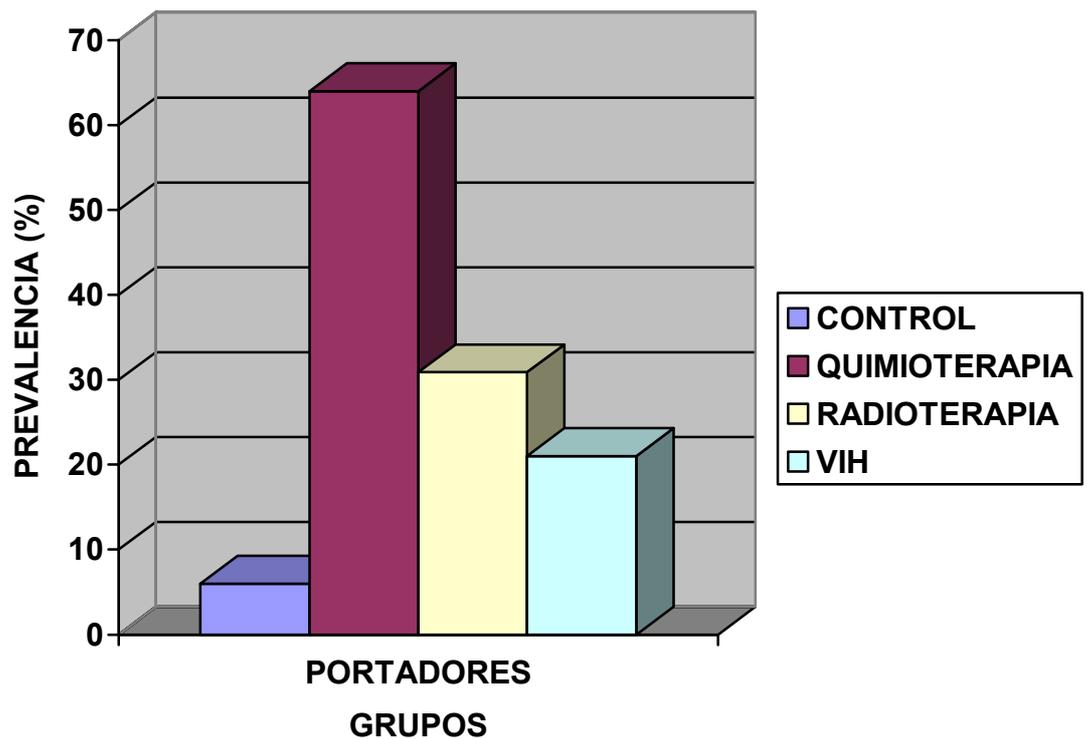


GRAFICO 1.- PREVALENCIA DE PORTADORES DE *CANDIDA SPP* EN LA POBLACIÓN ESTUDIADA

DISTRIBUCION DE ESPECIES DE CANDIDA

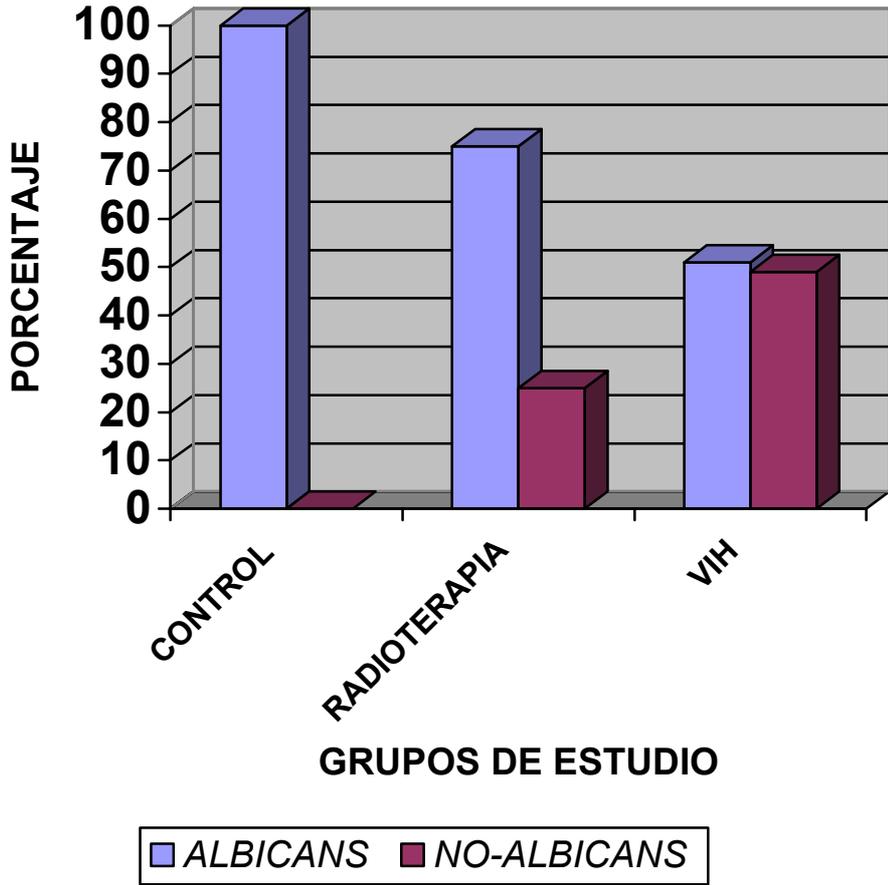


GRAFICO 2.- DISTRIBUCIÓN DE ESPECIES DE *Candida* EN LOS GRUPOS DE ESTUDIO

ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.

Diferencias de prevalencias de portadores entre las diferentes poblaciones de estudio.

El análisis estadístico arrojó una significación absoluta $p = 0.0000$ cuando se comparan los 4 grupos de estudio, lo que se interpreta como que existe una muy fuerte asociación de la presencia de *Candida spp* en cavidad bucal de ciertos grupos poblacionales. Para poder identificar de manera más precisa la asociación entre grupo de riesgo y presencia de *Candida* las prevalencias de los diferentes grupos de estudio fueron analizadas de manera independiente, comparándolas contra el grupo control y contra los demás grupos.

Por motivos de orden y para una mejor exposición de los resultados solamente se describirán las asociaciones positivas, el total de resultados de este análisis estadístico se muestra en las tablas correspondientes.

Cuando se comparan las prevalencias de portadores de *Candida spp* de los grupos de estudio versus el grupo control los resultados son estadísticamente significativos, $p < 0.05$ en todos los casos. Esto es que los pacientes inmunodeprimidos por diferentes causas (infecciosas o terapéuticas/iatrogénicas) presentan mayor colonización de *Candida* que la población inmunocompetente. Se

observó una mayor asociación en los pacientes sometidos a quimioterapia y a radioterapia. Esto es que los pacientes bajo este tipo de terapia, quimio y radioterapia, tienen mayor probabilidad de presentar colonización de *Candida* que los sujetos sanos y que los pacientes VIH+/SIDA. Cuando se analiza la comparación de prevalencias de portadores de *Candida* entre los grupos de estudio se observa que la prevalencia mayor en el grupo Quimioterapia es estadísticamente significativa, tanto en comparación con los pacientes sometidos a radioterapia como a los pacientes VIH+/SIDA. Adicionalmente se obtuvo el riesgo relativo de ser colonizado por *Candida* en función del tipo de etiología de la inmunodeficiencia. De tal forma los pacientes sometidos a Quimioterapia presentan 3.97 veces más riesgo de colonización por *Candida* que los pacientes sometidos a Radioterapia (OR 3.97; IC 2.15 – 7.36); mientras que los pacientes sometidos a Quimioterapia presentan 6.69 veces más posibilidad de ser colonizados por *Candida* que los pacientes VIH+/SIDA (OR 6.69; IC 3.41 – 13.26).

En relación a la comparación por género de las diferentes prevalencias y distribución de portadores de *Candida spp* los resultados son los siguientes:

Género Masculino: Existe una diferencia estadísticamente entre las prevalencias ($p < 0.05$) existiendo por lo tanto una mayor asociación entre los varones sometidos a quimioterapia. Sin embargo cuando

se comparan los grupos de varones en relación a el tipo de inmunodeficiencia versus el grupo control, se observó una fuerte asociación con los grupos sometidos a Quimioterapia y Radioterapia, $p < 0.05$ en ambos casos, sin embargo llama la atención que la diferencia de prevalencias entre varones VIH+/SIDA contra varones sanos no es estadísticamente significativo, $p > 0.05$. Cuando se analiza las prevalencias de portadores varones de Candida entre los grupos de estudio se sigue observándose una fuerte asociación con los varones sometidos a Quimioterapia en comparación con los sometidos a radioterapia ($p < 0.05$) y con los varones VIH+/SIDA ($p < 0.05$), sin embargo no hay diferencias estadísticamente significativas entre varones sometidos a radioterapia y varones VIH+/SIDA. La obtención del riesgo relativo mostró que los pacientes varones sometidos a quimioterapia presentan 4.59 (IC 1.92 -11.20) veces mas riesgo de ser colonizados por Candida que los varones sometidos a radioterapia y 7.23 (IC 2.68 – 19.81) veces más que los infectados por el VIH.

Género Femenino: Existe una diferencia estadísticamente significativa entre las prevalencias ($p < 0.05$) existiendo por lo tanto una mayor asociación entre las mujeres sometidas a quimioterapia. Cuando se comparan los grupos de mujeres en relación al tipo de inmunodeficiencia versus el grupo control, se observó siempre una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos de estudio ($p < 0.05$) en comparación con las mujeres sanas. Cuando se analiza

las prevalencias de portadores mujeres de Candida entre los grupos de estudio se observa asociación de mujeres sometidas a Quimioterapia y colonización por Candida en comparación con las sometidas a radioterapia ($p < 0.05$) y con mujeres VIH+/SIDA ($p < 0.05$). Al igual que con el género masculino no hay diferencias estadísticamente significativas entre mujeres sometidos a radioterapia y mujeres VIH+/SIDA. La obtención del riesgo relativo mostró que las mujeres sometidos a quimioterapia presentan 3.30 (IC 1.05 -11.05) veces mas riesgo de ser colonizados por Candida que las mujeres sometidos a radioterapia y 6.61 (IC 2.41 – 19.21) veces más que las mujeres VIH+/SIDA.

Diferencias de prevalencias de portadores entre las diferentes subpoblaciones VIH/SIDA.

La diferencias en las prevalencias de portadores en relación a el grupo de riesgo no mostró diferencias estadísticamente significativas, $p > 0.05$ en todos los casos.

En el caso del estado inmunológico la diferencia en la prevalencia entre sujetos con inmunodeficiencia moderada comparada con la observada en sujetos con inmunodeficiencia severa fue estadísticamente significativa, $p 0.01$, OR 0.23; IC 95% 0.06 – 0.94.

Por su parte cuando se analizan las prevalencias de portadores de Candida spp en relación a el estado virológico, no se

encontraron diferencias estadísticamente significativas en ningún caso.

Diferencias de prevalencias de especies de *Candida spp* entre las diferentes poblaciones de estudio.

Para una mejor comprensión y análisis de los resultados se compararon las prevalencias de portadores de *C albicans*, mientras que las demás especies se agruparon como especies no-albicans no haciendo distinción de las especies específicas. Aunque se observó una mayor prevalencia de especies no-albicans en la población sometida a Radioterapia y en la población VIH+/SIDA esta diferencia no fue estadísticamente significativa, $p > 0.05$ en todos los casos. De igual manera no se identificó asociación tanto de *C albicans* como de *C no-albicans* en las diferentes poblaciones y subpoblaciones demográficas, $p > 0.05$ en todos los casos.

DISCUSION

Este trabajo muestra la prevalencia de portadores orales de *Candida spp* en tres poblaciones con inmunodeficiencia de diferentes orígenes y las compara con un grupo de sujetos inmunocompetentes. De igual forma establece la prevalencia de especies de *Candida* en las poblaciones de estudio.

El género *Candida* es el agente causal mas frecuente que coloniza la cavidad oral de la población VIH+/SIDA, siendo por lo tanto la Candidiasis oral la infección oral oportunistas mas frecuente de este tipo de pacientes. Aunque los valores de las prevalencias de episodios clínicos de candidiasis oral varían en función de la población, vía de contagio y tratamiento antiretroviral utilizado, en prácticamente todos los reportes se menciona a la Candidiasis oral como la infección oportunista mas frecuente. En la era pre-TAAA los valores de prevalencia de CO fueron para pacientes VIH holandeses del 52% (53), mientras que en pacientes italianos VIH la prevalencia reportada para sujetos con vía de contagio UDVP fue 31,3%, otra muestra de pacientes italianos VIH arrojó una prevalencia del 48% para candidiasis pseudomembranosa que es más frecuente que la candidiasis eritematosa (23,7%) (54). En pacientes VIH griegos se reportó que el 61% de ellos presentaba Candidiasis oral (55), siguiendo el mismo patrón del resto de países europeos esto es, la

candidiasis pseudomembranosa era más frecuente que la candidiasis eritematosa. En 1993 Felix y Wray (56) estudiaron 21 individuos infectados por el VIH en Edinburgo, observando candidiasis oral en el 52% de los pacientes, candidiasis eritematosa 38%, candidiasis pseudomembranosa 21% y queilitis angular 6,6%. Feigal y cols. (57) realizaron un estudio en San Francisco en 1991 sobre pacientes varones homosexuales y bisexuales infectados por VIH durante un período de tres años, comprobando que la candidiasis pseudomembranosa era la segunda lesión oral más común, tras la leucoplasia vellosa y que junto con el sarcoma de Kaposi aparecían sobre todo en pacientes con bajos niveles de CD4. En pacientes en vías de desarrollo en la era pre-TAAA la prevalencia de CO fue de hasta el 94% para pacientes de Zaire. (58). Ramírez y cols. (59) examinaron 125 pacientes mexicanos infectados por VIH, observando candidiasis oral en el 51% de los casos, 35% del tipo eritematoso y 16% del tipo pseudomembranoso, apareciendo este último tipo con valores más altos en los estadios tardíos de la infección.

En el caso de la población estudiada en el presente trabajo, Ceballos y cols en 1996, esto es en la era pre-TAAA (60) establecieron la prevalencia de las lesiones orales asociadas al sida, en sujetos españoles. Establecen que las lesiones por Candida, aparecían en el 65,7%, estando la Candidiasis oral relacionada con

conteos de linfocitos CD4 por debajo de 200/mL. En los enfermos incluidos con inmunodeficiencia leve (cifras de linfocitos CD4 >500 /mm³), aparecía en el 35,65%, siendo la variedad clínica más frecuente, en este grupo, la pseudomembranosa (8,25%), seguida de la variedad eritematosa (6,97%) y de la forma hiperplásica que aparecía en un 0,77%. La queilitis angular, como forma asociada, aparecía en este grupo en un 19,37% de los enfermos. En los enfermos con inmunosupresión moderada (cifras de linfocitos CD4 >200 - <500/mm³) aparecen las lesiones por Cándidas en un 59,80% de los enfermos, en estos, la forma pseudomembranosa aparecía en el 11,76%, seguida de la forma eritematosa, que estaba presente en el 30,39% de los enfermos, y la variedad hiperplásica, que la encontraban en un 5,88%. La queilitis angular aparecía en un 11,76%. En los enfermos con inmunosupresión severa (cifras de linfocitos CD4 < 200/mm³), las lesiones por Candida spp aparecían en el 92,72% de los enfermos. La forma pseudomembranosa la encontraban en el 76,96%, la variedad eritematosa en el 33,93% y la hiperplásica en el 13,33% de los enfermos. La queilitis angular aparecía en el 33,12% de los pacientes. En trabajos posteriores, estos autores (61 - 63) observaron un descenso de la prevalencia de la candidiasis oral, en los que se sigue observando una relación entre cifras de CD4 y la presencia de lesiones por Cándidas, que oscilan entre un 40-60%. Entre el colectivo homosexual, Ceballos y cols. (64), encuentran una prevalencia de candidiasis del 56,07%.

Ya en la era-TAAA, en un trabajo piloto, publicado por estos autores en 1998 (65) sobre la posible influencia de la aplicación de la terapia antiretroviral altamente activa en la aparición de las lesiones orales, en enfermos con seis meses de medicación, encontraron las lesiones por *Candida spp* en una proporción del 30,23% de los enfermos. Los pacientes con inmunosupresión leve (enfermos con más de 500 linfocitos CD4/mm³), aparecía en el 18,75%, la variedad pseudomembranosa no se observó en ningún caso, la variedad eritematosa en 18,75% y de la forma hiperplásica no encontraron ningún caso. La queilitis angular, como forma asociada, aparecía en este grupo en un 5,88% de los enfermos. En los enfermos con inmunosupresión moderada (enfermos con cifras de CD4 entre 200-500 mm³) aparecían las lesiones por Cándidas en un 29,41% de los enfermos, en estos, la forma pseudomembranosa aparecía en el 2,94%, la forma eritematosa estaba presente en el 41,17% de los enfermos, no encontrando ningún caso de la variedad hiperplásica. La queilitis angular aparecía en un 5,88%. En los con inmunosupresión severa (cifras de CD4 por debajo de 200/mm³), las lesiones por *Candidas* aparecían en el 36,11% de los enfermos. La forma pseudomembranosa la encontraban en el 13,88% de los enfermos, la variedad eritematosa en el 50% de los enfermos de este grupo, no encontrando tampoco en este grupo ningún caso de la variedad hiperplásica. La queilitis angular aparecía en el 2,77% de

los pacientes. Valoraban también los autores en este trabajo la posible importancia de la carga viral en la aparición de las lesiones, o su posible influencia en la evolución de las mismas. Hacen los autores dos grandes grupos, uno de enfermos con carga viral menor de 10.000 copias/mm³ y otro de enfermos con carga viral superior a 10.000 copias/mm³. En los pacientes con carga viral inferior a 10.000 copias/mm³, las lesiones por Cándidas aparecían en un 27,77%, la forma pseudomembranosa en el 1,85% y la variedad eritematosa en el 27,77%. La queilitis angular, la encontraban en un 1,85%. En los enfermos con carga viral superior a 10.000 copias/mm³, las lesiones por cándidas aparecían en el 46,87%, la variedad pseudomembranosa en el 15,63%, la forma eritematosa en el 62,5% y la queilitis angular en el 6,25%. En un trabajo posterior (66), estos autores, encuentran una prevalencia de lesiones por Cándidas del 30,2%, en los pacientes del Grado 1, aparecía en el 18,8%, en el Grado 2, en el 29,4% y en los pacientes del Grado 3 en el 36,1%, en este trabajo, la variedad más prevalente fue la eritematosa, seguida de la pseudomembranosa, que aparecía en una proporción mucho menor, no encontraron los autores, tampoco en este estudio, ningún caso de variedad hiperplásica. Según la carga viral, los pacientes con menos de 10.000 copias/mm³, presentaban lesiones por Cándidas en el 20,4%, y los pacientes con carga viral superior a 10.000 copias/mm³, en un 46,9%. Estos dos últimos trabajos, fueron estudios piloto, con una muestra pequeña de

enfermos. Este mismo grupo de investigación hacen un recuento de el comportamiento y la evolución de las lesiones candidales orales en los pacientes VIH/SIDA españoles en los últimos 10 años y de como esta lesión en particular ha sido influenciada por la incorporación de la terapia antiretroviral altamente activa que incluyera inhibidores de proteasa. Este reporte muestra que la TAAA ha influido en dos formas importantes a la Candidiasis oral, tanto en su prevalencia observándose una disminución, y de una manera sobresaliente se observó un reacomodo de la prevalencia de las variedades clínicas, esto es hay una disminución de lesiones pseudomembranosas, con un aumento de las lesiones eritematosas, habiendo desaparecido prácticamente las lesiones hiperplásicas (67).

En el caso de la infomación concerniente a colonización oral de Candida los datos son menos abundantes, a pesar de que se ha establecido perfectamente que sujetos con inmunodeficiencia, independientemente del origen, presentan mayor posibilidad de colonización. En pacientes con infección por VIH se ha reportado cifras de colonización que son muy variadas. Por una parte se han reportado valores tan bajos como el 16.2% y 24% (68, 69) y valores tan altos como el 93% (49). En un estudio previo realizado en una población con características demograficas muy semejantes a las estudiadas en el presente trabajo se comunicó una prevalencia de

portadores del 54.09% (64). La presencia de cultivos positivos a *Candida* en nuestro país, en enfermos con o sin lesiones, ha sufrido muy pocas variaciones, manteniéndose prácticamente los valores obtenidos a lo largo de estos años, ya que Ceballos y cols. encontraron una prevalencia que oscilaba entre el 48,53 y el 59,9% (62, 64) y en los trabajos que estos mismos autores realizaron sobre pacientes sometidos a triple medicación, aparecían los cultivos positivos con una prevalencia que oscilaba entre el 54,7 y el 55,8% (65, 66). Sin embargo los resultados obtenidos en el presente trabajo muestran una disminución en la prevalencia de portadores sometidos a Terapia Antiretroviral Altamente Activa, que incluya inhibidores de proteasa. Este dato pudiera sugerir una disminución en la frecuencia de portadores de *Candida* oral .

La posible disminución observada en el presente trabajo, de *Candida* spp en la cavidad bucal de sujetos VIH+/SIDA pudiera estar relacionada a varios aspectos, tanto inherentes a la biología del hongo, factores de colonización y factores de adherencia, y a factores del huésped. Donde el status inmunológico pudiera estar asociado a la colonización por *Candida*. Esto es, un estadio de inmunodepresión severa favorece la colonización de *Candida*, tal y como fue esperado y observado en el grupo Quimioterapia (prevalencia de portadores del 64%). En el caso de los pacientes VIH+/SIDA, se presentó la mayor cantidad de cultivos positivos a

Candida en las muestras provenientes de pacientes con inmunodepresión severa prevalencia de 42.1%. Esto sugiere que una de las razones pudiera ser éxito de la terapia antiretroviral altamente activa que favorece de manera concomitante la reconstitución inmunológica tanto sistémica, como local de las mucosas orales.

La asociación entre carga viral y colonización oral de candida muestran datos contradictorios en la literatura al respecto. Se ha propuesto que la colonización por Candida esta relacionada con la carga viral, mas que con el estado inmunológico o el uso y tipo de antiretrovirales (70). Se proponen las siguientes posibilidades para justificar bajos niveles de cargas virales y baja colonización de Candida: La presencia y viremia el VIH afecta directamente la inmunidad celular de la mucosa oral; el VIH afecta las especies de Candida directamente haciendo que aumenten su virulencia por la unión de GP160 y GP41 (71, 72). Por otra parte un estudio de cohorte mostró que no ha habido una disminución en los aislamientos positivos de *C. albicans* entre 1992 y 2000 (58.5%, 62.8%) respectivamente, pero si una disminución de episodios clínicos de Candidiasis oral. Los datos comunicados por estos autores muestran que la colonización es idéntica en ambos grupos virológicos con cargas virales <200 copias rna-VIH-1/ml y con cargas virales >100,000 copias rna-VIH-1/ml (20%), estos autores

proponen que la colonización esta en relación a la carga viral, sin justificar esta aseveración. Sin embargo sus datos de disminución en la prevalencia de OC sin disminución en la prevalencia de aislados de Candida (73) si pudieran estar relacionados con aspectos biológicos del hongo, ya que se ha demostrado que factores genéticos de cada de las cepas están involucrados en el cambio de forma comensal a forma patógena (74), de tal forma que aunque no ha disminuido la cantidad de cultivos positivos si se puede observar disminución en los casos de candidiasis oral. Nosotros no encontramos diferencias de prevalencia de portadores en relación a la carga viral, los datos de prevalencia obtenidos en los tres grupos son muy similares y van de 18.2% en los pacientes con carga viral indetectable a 27.3% de los pacientes con carga viral >10,000 copias/mL.

Por otra parte, se sabe que las cepas de Candida que muestran genes SAP1 y SAP3 presentan mayor virulencia ya que son genes involucrados en el aumento de adhesión (75). Esta información adquiere importancia ya que estos genes expresan una enzima de adhesión denominada proteinasa aspartil secretoria. Esta proteinasa pudiera ser blanco del efecto de los inhibidores de proteasa anti-VIH. Esta posibilidad ha sido demostrada in vitro, y reforzada por el hecho de que niveles farmacológicamente activos de inhibidores de proteasa se han podido aislar en saliva de sujetos

sometidos a este medicamento. Evidentemente que se necesita de un proyecto de investigación diseñado ex-profeso para dilucidar esta interrogante, ya que rebasa los objetivos planteados en este proyecto de investigación.

En el caso de pacientes con inmunodeficiencia asociada a quimioterapia, la Candidiasis oral es común en pacientes con Cáncer avanzado, su prevalencia en este grupo de pacientes se ha reportado hasta entre el 66% (76) y el 94% (77). Un dato que llama la atención es que en una población de pacientes con Cáncer avanzado, aproximadamente el 30% de ellos presentó 2 o más especies de Candida en el mismo cultivo (76). En el caso de pacientes que han recibido radioterapia para tratamiento de neoplasias malignas de cabeza y cuello se ha reportado que el 70% fueron portadores orales de Candida (78) En un estudio prospectivo sobre colonización oral por Candida en pacientes radiados a causa de carcinoma nasofaríngeo, se concluye que la colonización coincide con el inicio de la radioterapia y que alcanza entre el 40 % y el 50 % dependiendo de la edad, habiendo una mayor diversidad de especies de candida entre la población radiada que la población sana (79). En otra serie de pacientes radiados por causa de cáncer de cabeza y cuello se reporta una prevalencia de 73% de portadores de Candida, donde cerca del 32% correspondieron a especies no-albicans (80). De tal forma que se anticipa que uno de cada 3

pacientes que reciban radioterapia presentarán cuadros de candidiasis oral clínica (81). Se postula que el daño sobre las glándulas salivales incluidas en el campo de radiación y la concomitante xerostomía son la principal causa del incremento en la colonización e infección por *Candida*. En el caso de pacientes bajo quimioterapia se ha reportado una prevalencia de colonización por *Candida* desde 90% (82) al 72% (83). Aunque no existen datos concluyentes al respecto, cuando se comparan pacientes radiados vs pacientes bajo quimioterapia respecto a la colonización por *Candida* se ha sugerido que los pacientes bajo quimioterapia presentan mayor cantidad de colonización que su contraparte bajo radioterapia (84). Los datos obtenidos en el presente trabajo son concordantes con lo publicado en la literatura.

En cuanto a las especies de *Candida* aisladas en el presente trabajo, es importante señalar el aumento de especies no-*albicans* aisladas. En total en los grupos de estudio se aislaron 66 cepas de *Candida*, de los cuales 72.7% correspondió a *C. albicans* y 27.2% a las especies no-*albicans*. En el caso específico de los pacientes VIH/SIDA la proporción de especies *albicans* vs no-*albicans* es casi 1:1 esto es 51.8% de los cultivos pertenecieron a *C. albicans* y 48.2% de los cultivos fueron identificados como no-*albicans*. El incremento de especies no-*albicans* en la colonización de la cavidad oral de pacientes inmunodeprimidos toma importancia debido a que

diferentes especies muestran diferentes patrones de sensibilidad y resistencia a antimicóticos lo que indudablemente influye en el éxito terapéutico, tal y como ha sido demostrado para *C glabrata* (85). Por ejemplo se han identificado mas de 17 especies en relación a candidemias entre las cuales se encuentra *C lusitaniae*, *C guillermondii*, *C rugosa*, *C dubliniensis*. Estas especies también han mostrado patrones de resistencia incrementados a antifúngicos. Se ha reportado que especies de Candida consideradas como raras o muy raras pueden ser aisladas de pacientes con grave compromiso sistémico (86). En el presente trabajo se identificaron de cultivos de especies de Candida consideradas como muy raras en la cavidad oral, se identificaron dos cultivos de *C pulcherrima* y un cultivo de *C sake*. Se sugirió que en los años 80's existió un incremento en la colonización de *C pulcherrima* relacionado con onicomicosis presente en pacientes con compromiso sistémico (87).

En referencia a *C pulcherrima* en sujetos VIH puede ser importante mencionar su capacidad de secreta proteinasas (88) como factores de virulencia ya que este hecho pudiera estar relacionado a los pocos casos de lesión oral clínica asociada a esta especie en pacientes VIH/SIDA sometidos a TAAA que incluya inhibidores de proteasa, que pudieran inhibir este importante factor de virulencia. Por otra parte ya que la morfología y fisiología de la *C pulcherrima* es muy cercana a *C lusitania* puede ser posible que esta

especie pueda haber sido no diagnosticada y que algunas cepas de *C pulcherrima* hayan sido diagnosticadas como *C lusitania* (89). Una manera propuesta para diferenciar entre ambas especies se basa en las características de reproducción de *C pulcherrima* ya que esta especie produce largas ascosporas acirculares, delgadas (90).

Por otra parte, *Candida sake* se ha podido aislar de pacientes VIH (91), así como en niños con leucemia (92), y en sujetos órgano-trasplantados (93). La *sake* ha demostrado poseer una disminución en su sensibilidad hacia fluconazole, amfotericina B, ketoconazole y flucitosina (94; 95). Sin embargo, aunque es indudable la importancia terapéutica que implica el haber podido aislar especies muy raras de *Candida*, es indudable que estos resultados tendrán que ser corroborados por otras series de investigación. Nosotros no pudimos identificar ninguna especie no-albicans en el grupo control.

CONCLUSIONES

- 1) La colonización por *Candida spp* esta íntimamente relacionada al estado de inmunocompetencia de los portadores.
- 2) Los pacientes VIH/SIDA muestran una mejoría inmunológica y virológica relacionada probablemente con tratamiento antiretroviral altamente activo al cual estaban sometidos, y que indudablemente se reflejó en la prevalencia de acarreadores de *Candida* que fue menor a los pacientes sometidos a quimioterapia y radioterapia.
- 3) Nuestros resultados muestran que la población inmunodeprimida presenta mayor probabilidad de colonización por especies no-albicans que los sujetos inmunocompetentes lo cual puede tener importancia en relación al éxito o fracaso terapéutico.

BIBLIOGRAFIA

- 1).- Edwards J.E.Jr. Candida Species. En Mandell GL, Bennett JE, Dolin R. Principles and Practice of Infectious Disease. 4^a Ed. Churchill Livingstone. Nueva York. 1995.
- 2).- Joachim H, Polayes S. Subacute endocarditis and systemic mycosis (monilia). JAMA. 1940; 115:205-8.
- 3).- Hansenclever HF, Mitchell WO. Antigenic studies of candida. I. Observation of two antigenic groups in Candida albicans. J. Bacteriol 1961; 82: 570-3.
- 4).- Hansenclever HF, Mitchell WO. Antigenic studies of candida. III. Comparative pathogenesis of Candida albicans group A, group B, and Candida stellatoidea. J Bacteriol 1961; 82: 578-81.
- 5.- Brawner DL, Anderson GL, Yuen KY. Serotype prevalence of Candida albicans from blood culture isolates. J Clin Microbiol 1992; 30:149-51
- 6).- McQuillen DP, Zingman BS, Meunier F, Levitz SM. Invasive infections due to Candida krusei: report of ten cases of fungemia that include three cases of endophthalmitis. Clin Infect Dis 1992; 14:277-278.
- 7).- Fischl MA, Richman DD, Griego MH. The efficacy of azidothymidine (AZT) in placebo controlled trial. N Engl J Med. 1987;317:185-91.

- 8).- Voldberding PA, Lagakos SW, Koch MA. AZT in asymptomatic infection. A controlled trial in persons with fewer than 500 CD4-positive cells per cubic millimeter. *M Engl J Med*. 1990; 322:941-9.
- 9).- Hadfield TL, Smith MB, Winn RE, Rinaldi MG, Guerra C. Mycoses caused by *Candida lusitanae*. *Rev Infect Dis* 1987;9:1006-12.
- 10).- Nielsen H, Stenderup J, Bruun B, Ladefoged J. *Candida norvegensis* peritonitis and invasive disease in a patient on continuous ambulatory peritoneal dialysis. *J Clin Microbiol* 1990;28:1664-5.
- 11).- Weems JJ Jr. *Candida parapsilosis*: epidemiology, pathogenicity, clinical manifestations, and antimicrobial susceptibility. *Clin Infect Dis*. 1992;14:756-66.
- 12).- Piper JP, Rinaldi MG, Winn RE, *Candida parapsilosis*: an emerging problem. *Infect Dis Newsl* 1988;7:49-50/55-6.
- 13).- Marina NM, Flynn PM, Rivera GK, Hughes WT. *Candida tropicalis* and *Candida albicans* fungemia in children with leukemia. *Cancer* 1991; 68: 594-9 .
- 14).- Alsina A, Mason M, Uphoff RA, Riggsby WS, Becker JM, Murphy D. Catheter-associated *Candida utilis* fungemia in a patient with acquired immunodeficiency syndrome: species verification with a molecular probe. *J Clin Microbiol* 1988;26:621-4.
- 15).- Scherer S, Stevens DA. Application of DNA typing methods to epidemiology taxonomy of *Candida* species. *J Clin Microbiol* 1987 ;25: 675-9

16).- McCollough M, Ross B, Reade P. Characterization of genetically distinct subgroup of *Candida albicans* strains isolated from oral cavities of patients with human immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol* 1995;33:696-700

17).- Coleman DC, Sullivan DJ, Bennet DE et al. Candidiasis: the emergence of a novel species *Candida dubliniensis*. *AIDS* 1997;11:557-567.

18).- Sullivan DJ, Westerneng TJ, Haynes KA et al. *Candida dubliniensis* sp. Nov. Phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology* 1995;141:1507-1521.

19).- Sullivan D, Haynes K, Billie J, et al. Widespread geographic distribution of oral *Candida dubliniensis* in human immunodeficiency virus-infected individuals. *J Clin Microbiol* 1997;35:960-964.

20 Polacheck I, Starhilevitz J, Sullivan D, et al. Recovery of *Candida dubliniensis* from Non-Human Immunodeficiency virus-infected patients in Israel. *J Clin Microbiol* 2000;38:170-174.

21).- Moran GP, Sullivan DJ, Henman MC, et al. Antifungal drug susceptibilities of oral *Candida dubliniensis* isolates from human immunodeficiency virus-infected subjects and generation of stable fluconazole-resistant derivatives in vitro. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:617-623.

22).- Walsh TJ, Pizzom PA. Laboratory Diagnosis of Candidiasis. En Gerald P.Bodey: *Candidiasis. Pathogenesis, Diagnosis, and Treatment*. 2^a Ed. Nueva York: Raven Press; 1993: 1-17.

- 23).- Goldberg PK, Kozinn PJ, Wise J, et al. Incidence and significance of candiduria. JAMA. 1979; 241:582-4.
- 24).- Erlich HA, Gelfand D, Snisky JJ. Recent advance in the polymerase chain reaction. Science. 1991;252:1643-51.
- 25).- Odds FC. Candida and candidiasis. A review of the bibliography. 2nd ed. Londres: Ballier Tindall-W.B: Saunders, 1988.
- 26.- Amato R, Pecora A: Presence of Candida albicans in the oral cavity of healthy subjects. Boll Soc Ital Biol Sper. 1983;59:529-31
- 27.- Boriollo MF, Rosa EA, Bernardo WL, Goncalves RB, Hofling JF: Electrophoretic protein patterns and numerical analysis of Candida albicans from the oral cavities of healthy children. Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2003;45:249-57.
- 28.- Akdeniz BG, Koparal E, Sen BH, Ates M, Denizci AA: Prevalence of Candida albicans in oral cavities and root canals of children. ASDC J Dent Child. 2002;69:289-92, 235.
- 29.- Cannon RD, Holmes AR, Mason AB, Monk BC: Oral Candida: clearance, colonization, or candidiasis?. J Dent Res. 1995; 74(5):1152-61
- 30.- Ceballos: Candida en población sana.
- 31.- Zhao M, Zhou ZT. Antifungal susceptibility testing of commensal and pathogenic clinical isolates of oral Candida. Shanghai Kou Qiang Yi Xue. 2006 Apr;15(2):218-20.

- 32.- Mavor AL, Thewes S, Hube B. Systemic fungal infections caused by *Candida* species: epidemiology, infection process and virulence attributes. *Curr Drug Targets*. 2005 Dec;6(8):863-74.
- 33.- Fernandez-Arenas E, Molero G, Nombela C, Diez-Orejas R, Gil C. Low virulent strains of *Candida albicans*: unravelling the antigens for a future vaccine. *Proteomics*. 2004 Oct;4(10): 3007-20.
- 34.- Whiteway M, Oberholzer U. *Candida* morphogenesis and host-pathogen interactions. *Curr Opin Microbiol*. 2004 Aug;7(4):350-7.
- 35).- Gottlieb MS, Schanker HM, Fan PT, Saxon A, Weisman JO, Polzalski. *Pneumocystis pneumonia*-Los Angeles. *MMWR* 1981;30;250-51.
- 36).- Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM, et al. Pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men: evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med* 1984, 311:354-
- 37).- Samaranayake LP. Oral mycoses in HIV infection. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 73: 171-80.
- 38).- Samaranayake LP, Holmstrup P. Oral candidiasis and human immunodeficiency virus infection. *J Oral Pathol Med* 1989; 18: 554-564.
- 39).- Katz MH, Greenspan D, Westenhouse J, et al. Progression to AIDS in HIV-infected homosexual and bisexual men with hairy leukoplakia and oral candidiasis. *AIDS* 1992, 6:95-100.

40).- Selwyn PA, Alcabes P, Hartel D, et al. Clinical manifestations and predictors of disease progression in drug users with human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 1992, 327:1697

41).- Moss AR, Bacchetti P, Osmond D, et al. Seropositivity for HIV and the development of AIDS or AIDS-related condition: three year follow-up of de San Francisco General Hospital cohort. *BMJ* 1988, 296:745-750.

42).- Klein RS, Harris CA, Small CB, Moll B, Lesser M, Friedlan GH. Oral candidiasis in high-risk patients as the initial manifestation of the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med* 1984;311:354

43).- Scully C, Laskaris G, Porter SR. Oral manifestations of HIV infection and their management. More common lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 71: 158-66.

44).- Anónimo. Orofacial manifestations of HIV infection. *The Lancet* 1988; 30: 976-7.

45).- EEC Clearinghouse on Oral Problems Related to HIV Infection and WHO Collaborating Centre on Oral Manifestations of the Immunodeficiency Virus. Classification and diagnostic criteria for oral lesions in HIV infection. *J Oral Pathol Med* 1993; 22: 289-91.

46).- Holmstrup P, Axell T. Classification and clinical manifestations of oral yeasts infections. *Act. Odont. Scad.* 1990;48:57-61

47.- Epstein JB, Hancock PJ, Nantel S. Oral candidiasis in hematopoietic cell transplantation patients: an outcome-based analysis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003 Aug;96(2):154-63.

48.- Rodero L, Davel G, Soria M, Vivot W, Cordoba S, Canteros CE, Saporiti A; EMIFN. Multicenter study of fungemia due to yeasts in Argentina. *Rev Argent Microbiol.* 2005 Oct-Dec;37(4):189-95.

49.- Ostrosky-Zeichner L. New approaches to the risk of *Candida* in the intensive care unit. *Curr Opin Infect Dis.* 2003 Dec;16(6):533-7

50.- Zarate MS, Jorda Vargas L, Lanza A, Relloso S, Diaz C, Smayevsky J.: Microbiologic study of bacteremia and fungemia in chronic hemodialysis patients *Rev Argent Microbiol.* 2005 Jul-Sep;37(3):145-9.

51.- Torfoss D, Sandven P.: Invasive fungal infections at The Norwegian Radium Hospital 1998-2003. *Scand J Infect Dis.* 2005;37(8):585-589.

52.- Groll AH, Just-Nuebling G, Kurz M, Mueller C, Nowak-Goettl U, Schwabe D, Shah PM, Kornhuber B: Fluconazole versus nystatin in the prevention of *Candida* infections in children and adolescents undergoing remission induction or consolidation chemotherapy for cancer. *J Antimicrob Chemother.* 1997;40(6):855-62

53.- Schulten EA, ten Kate RW, van der Waal I: Oral manifestations of HIV infection in 75 Dutch patients. *J Oral Pathol Med.* 1989;18(1):42-6

54.- Margiotta V, Campisi G, Mancuso S, Accurso V, Abbadessa V: HIV infection: oral lesions, CD4+ cell count and viral load in an Italian study population. *J Oral Pathol Med.* 1999;28(4):173-7.

55.- Laskaris G, Hadjivassiliou M, Stratigos J: Oral signs and symptoms in 160 Greek HIV-infected patients. *J Oral Pathol Med.* 1992;21(3):120-3.

56.- Felix DH, Wray D: The prevalence of oral candidiasis in HIV-infected individuals and dental attenders in Edinburgh. *J Oral Pathol Med.* 1993;22(9):418-20.

57.- Feigal E, Murphy E, Vranizan K, Bacchetti P, Chaisson R, Drummond JE, Blattner W, McGrath M, Greenspan J, Moss A: Human T cell lymphotropic virus types I and II in intravenous drug users in San Francisco: risk factors associated with seropositivity. *J Infect Dis.* 1991;164(1):36-42.

58.- Tukutuku K, Muyembe-Tamfum L, Kayembe K, Odio W, Kandi K, Ntumba M: Oral manifestations of AIDS in a heterosexual population in a Zaire hospital. *J Oral Pathol Med.* 1990;19(5):232-4.

59.- Ramirez V, Gonzalez A, de la Rosa E, Gonzalez M, Rivera I, Hernandez C, Ponce de Leon S: Oral lesions in Mexican HIV-infected patient. *J Oral Pathol Med.* 1990;19(10):482-5.

60.- Ceballos-Salobrena A, Aguirre-Urizar JM, Bagan-Sebastian JV. Oral manifestations associated with human immunodeficiency virus infection in a Spanish population. *J Oral Pathol Med.* 1996 Nov;25(10):523-6.

61.- Ceballos A, Aguirre JM, Bagán JV. Alteraciones orales en pacientes infectados por el VIH con menos de 200 linfocitos CD4. *Avances Odontoestomato.* 1997;13:119-128.

62.- Ceballos A, Olea D, Aguirre JM, Quindós G, Orihuela F, Castaño M. Candidiasis bucal en pacientes infectados por el VIH.

Aspectos clínicos y microbiológicos. Actualidad Obstetrico-Ginecologica. 1998;2:85-90.

63.- Ceballos A, Antunez JM, Bagán JV, Aguirre JM, Ceballos L. Lesiones orales asociadas a la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana en una población de 510 enfermos. Medicina Oral. 1998;3:199-206

64.- Ceballos L, Quindós G, Ceballos A. Prevalencia de las lesiones orales asociadas a la infección por el V.I.H. en una población homosexual. Medicina Oral 1999;4:470-478

65.- Ceballos A, Ceballos L. Influencia de los inhibidores de la proteasa del VIH, asociados a otros antiretrovirales, en la aparición de las lesiones orales asociadas al sida. evolución de las mismas. Archivos de Odontostomatología. 1998; 14: 284 -289

66.- Ceballos A, Gaitán LA, Ruesga MT, Ceballos L, Quindós G. Prevalencia de lesiones orales por Candida en una población con sida sometida a terapia antiretroviral altamente activa. Rev. Iberoam. Micol. 1998;15:141-145.

67.- Ceballos-Salobrena A, Gaitain-Cepeda L, Ceballos-Garcia L, Samaranayake LP.: The effect of antiretroviral therapy on the prevalence of HIV-associated oral candidiasis in a Spanish cohort. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod. 2004 Mar;97(3):345-50.

68.- Brawner DL, Cutler JE Oral Candida albicans isolates from nonhospitalized normal carriers, immunocompetent hospitalized patients, and immunocompromised patients with or without acquired immunodeficiency syndrome. J Clin Microbiol. 1989 Jun;27(6):1335-41.

- 69.- Sainis R, Aithal D. A study on Candida carriage and cytological evaluation of oral mucosa in human immunodeficiency virus (HIV) patients. *Indian J Dent Res.* 2003 Jan-Mar;14(1):39-45.
- 70.- Mercante DE, Leigh JE, Lilly EA, McNulty K, Fidel PL Jr: Assessment of the association between HIV viral load and CD4 cell count on the occurrence of oropharyngeal candidiasis in HIV-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2006;42(5):578-83.
- 71.- Flint SR, Tappuni A, Leigh J, Schmidt-Westhausen AM, MacPhail L: Markers of immunodeficiency and mechanisms of HAART therapy on oral lesions. *Adv Dent Res.* 2006;19(1):146-51.
- 72.- Ohmit SE, Sobel JD, Schuman P, Duerr A, Mayer K, Rompalo A, Klein RS; HIV Epidemiology Research Study (HERS) Group: Longitudinal study of mucosal Candida species colonization and candidiasis among human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and at-risk HIV-seronegative women. *J Infect Dis.* 2003;188(1):118-27.
- 73.- Blignaut E: Oral candidiasis and oral yeast carriage among institutionalised South African paediatric HIV/AIDS patient. *Mycopathologia.* 2007 Feb;163(2):67-73.
- 74.- Nguyen MH, Cheng S, Clancy CJ: Assessment of Candida albicans genes expressed during infections as a tool to understand pathogenesis. *Med Mycol.* 2004;42(4):293-304.
- 75.- Hube B: Candida albicans secreted aspartyl proteinases. *Curr Top Med Mycol.* 1996 Dec;7(1):55-6

76.- Davies AN, Brailsford S, Broadley K, Beighton D: Oral yeast carriage in patients with advanced cancer. *Oral Microbiol Immunol.* 2002 Apr;17(2):79-84

77.- Nawrot U, Nowicka J, Juszczak K, Gusin B. Susceptibility to antifungal agents of *Candida* species isolated from paediatric and adult patients with haematological diseases. *Mycoses.* 2005 Nov;48(6):385-90.

78.- Dahiya MC, Redding SW, Dahiya RS, Eng TY, Kirkpatrick WR, Coco BJ, Sadkowski LC, Fothergill AW, Waite A, Rinaldi MG, Patterson TF, Thomas CR. Oropharyngeal candidiasis caused by non-albicans yeast in patients receiving external beam radiotherapy for head-and-neck cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2003 Sep 1;57(1):79-83.

79.- Belazi M, Velegriaki A, Koussidou-Eremondi T, Andreadis D, Hini S, Arsenis G, Eliopoulou C, Destouni E, Antoniadis D: Oral *Candida* isolates in patients undergoing radiotherapy for head and neck cancer: prevalence, azole susceptibility profiles and response to antifungal treatment. *Oral Microbiol Immunol.* 2004;19(6):347-51.

80.- Redding SW, Marr KA, Kirkpatrick WR, Coco BJ, Patterson TF. *Candida glabrata* sepsis secondary to oral colonization in bone marrow transplantation. *Med Mycol.* 2004 Oct;42(5):479-81.

81.- Hermann P, Berek Z, Krivan G, Marton K, Lengyel A. Incidence of oropharyngeal candidiasis in stem cell transplant (SCT) patients. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2005;52(1):85-94.

82.- Odds FC, Kibbler CC, Walker E, Bhamra A, Prentice HG, Noone P: Carriage of *Candida* species and *C albicans* biotypes in patients

undergoing chemotherapy or bone marrow transplantation for haematological disease. *J Clin Pathol.* 1989;42(12):1259-66

83.- Specchia G, Pastore D, Montagna MT, Carluccio P, Ciuffreda L, Rizzi R, Liso A. Fungemia in acute leukemia patients: a single institution's experience. *New Microbiol.* 2004 Oct;27(4):407-10.

84.- Rodero L, Davel G, Soria M, Vivot W, Cordoba S, Canteros CE, Saporiti A; EMIFN. Multicenter study of fungemia due to yeasts in Argentina
Rev Argent Microbiol. 2005 Oct-Dec;37(4):189-95.

85.- Pfaller M A, Diekema JM. Role of sentinel surveillance of candidemia: trends in species distribution and antifungal susceptibility. *J. Clin. Microbiol.* 2002.40:3551–3557.

86.- Dorko E, Kmetova M, Pilipcinec E, Bracokova I, Dorko F, Danko J, Svicky E: Rare non-albicans *Candida* species detected in different clinical diagnoses. *Tkacikova LFolia Microbiol (Praha).* 2000;45(4):364-8.

87.- Pospisil L: The significance of *Candida pulcherrima* findings in human clinical specimens. *Pospisil Mycoses.* 1989;32(11):581-3

88.- Gotoh T, Kikuchi K, Kodama K, Konno H, Kakuta T, Koizumi T, Nojiro K: Purification and properties of extracellular carboxyl proteinase secreted by *Candida pulcherrima*. *Biosci Biotechnol Biochem.* 1995;59(3):367-71.

89.- Noel T, Favel A, Michel-Nguyen A, Goumar A, Fallague K, Chastin C, Leclerc F, Villard J: Differentiation between atypical

isolates of *Candida lusitanae* and *Candida pulcherrima* by determination of mating type . J Clin Microbiol. 2005;43(3):1430-2.

90.- Francois F, Noel T, Pepin R, Brulfert A, Chastin C, Favel A, Villard J: Alternative identification test relying upon sexual reproductive abilities of *Candida lusitanae* strains isolated from hospitalized patients . J Clin Microbiol. 2001;39(11):3906-14.

91.- Hoegl L, Schonian G, Ollert M, Korting HC: *Candida sake*: a relevant species in the context of HIV-associated oropharyngeal candidiasis?. J Mol Med. 1998;76(1):70-3.

92.- Alberth M, Majoros L, Kovalecz G, Borbas E, Szegedi I, J Marton I, Kiss C: Significance of oral *Candida* infections in children with cancer. Pathol Oncol Res. 2006;12(4):237-41.

93.- Grossi P, Farina C, Fiocchi R, Dalla Gasperina D: Prevalence and outcome of invasive fungal infections in 1,963 thoracic organ transplant recipients: a multicenter retrospective study. Italian Study Group of Fungal Infections in Thoracic Organ Transplant Recipients. Transplantation. 2000;70(1):112-6.

94.- Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ, Jones RN and the International Fungal Surveillance Participant Group: In Vitro Activities of Voriconazole, Posaconazole, and Four Licensed Systemic Antifungal Agents against *Candida* Species Infrequently Isolated from Blood.

95.- Pfaller MA, Diekema DJ, Messer SA, Boyken L, Hollis RJ, Jones RN: In vitro susceptibilities of rare *Candida* bloodstream isolates to voriconazole and three comparative antifungal agents. Diagn Microbiol Infect Dis. 2004;48(2):101-5.