



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD XOCHIMILCO

**COLONIZACIÓN E INFECCIÓN DE ESPECIES DE *CANDIDA*
AISLADAS EN LA MUCOSA BUCAL DE PACIENTES CON
VIH/SIDA Y SU ASOCIACIÓN CON FACTORES DE VIRULENCIA Y
RESISTENCIA ANTIFÚNGICA**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRÍA EN PATOLOGÍA Y MEDICINA BUCAL

P R E S E N T A

Martha Estela García Sánchez

Comité Tutorial:

Co-Directora: Dra. Velia Ramírez Amador.
Co-Directora: Dra. Gabriela Anaya Saavedra.
Asesor: Dr. Luis Octavio Sánchez Vargas

27 de Julio 2015

El jurado designado por la División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Unidad
Xochimilco aprobó la ICR que presentó:

MARTHA ESTELA GARCÍA SÁNCHEZ

Comité Tutorial:

Co-Directora: Dra. Velia Aydée Ramírez Amador

Co-Directora: Dra. Gabriela Anaya Saavedra

Asesor: Dr. Luis Octavio Sánchez Vargas

Jurado:

M. en PMB. Jessica Maldonado Mendoza (Presidenta)

Dra. Ma. Esther Josefina Irigoyen Camacho (Secretaria)

Dr. Juan J. Calva Mercado (Vocal)

RESUMEN

Introducción: La candidosis bucal (CB) es la infección fúngica más común en los pacientes con VIH/SIDA y su tratamiento puede ser complicado debido a la alta frecuencia de resistencia a los antifúngicos.

Objetivo: Determinar el perfil de virulencia especie-específico de las especies de *Candida* aisladas de la mucosa bucal de un grupo de pacientes con VIH/SIDA y su posible asociación con las características clínicas, de laboratorio y la resistencia a fluconazol.

Material y Métodos: Estudio transversal, observacional y analítico (enero-mayo 2014). Previo consentimiento informado se incluyeron pacientes adultos (>18 años) con diagnóstico de VIH/SIDA. Se obtuvieron muestras mediante hisopado y enjuague bucal. Las muestras se sembraron en agar dextrosa Sabouraud (ADS). Se contabilizó el número de colonias y se resembraron en placas de CHROMAgar® *Candida* para tipificar la especie. Para evaluar el dimorfismo se realizó un cultivo en agar harina de maíz y se observó el crecimiento bajo microscopio óptico invertido. La capacidad de formación de biopelícula se valoró mediante la cinética del crecimiento del microorganismo a través de cambios colorimétrico medidos a 490 nm. Para determinar la sensibilidad a fluconazol se utilizó el método de difusión en disco (25 µg de fluconazol) de acuerdo al método M44-A2 (CLSI). El paquete JMP V.9 se utilizó para el análisis estadístico.

Resultados: Se incluyeron 120 pacientes con VIH/SIDA, 47 (39%) provenientes del INCMNSZ y 73 (61%) de la CEC; 109 (90%) correspondieron al sexo masculino, con una mediana de edad de 40 (Q₁-Q₃: 34-47) años y 59 (52%), se encontraban en la categoría de SIDA. La mediana de tiempo de diagnóstico de VIH fue de 1,749 (Q₁-Q₃: 355-3614) días; una gran proporción de los pacientes (95/81%) usaban TARAA, con una mediana de uso de 1,057 (Q₁-Q₃: 362-1982) días. La mayor parte de los individuos (76%) presentaron conteos de linfocitos CD4+ mayores de 200 cel/mm³, y carga viral indetectable (80; 72%). Se encontró una baja prevalencia de candidosis bucal (10.8%) y alta de colonización (39.2%). La especie más frecuente fue *C. albicans* (82%), seguida de *C. glabrata*. Se presentó una frecuencia de resistencia a fluconazol en el 39.5% de los pacientes, observando una mayor proporción en los colonizados (41.2%) en comparación con los infectados (33.3%).

Discusión: La baja prevalencia de candidosis bucal se atribuye a la alta proporción de pacientes con TARAA. Se sugiere que las especies *C. no albicans* se presentaron únicamente en colonización debido a su limitada o nula capacidad de dimorfismo, la cual es necesaria para penetrar e invadir los tejidos. La frecuencia de resistencia a fluconazol encontrada es comparable a estudios previos que han informado hasta 32% en población similar. La mayor frecuencia de resistencia a fluconazol encontrada en colonización (41%) podría atribuirse a que todas las especies de *Candida* no *albicans* se presentaron en colonización.

Conclusión: A pesar de la disminución en la frecuencia de lesiones bucales asociadas al VIH en la era post-TARAA, la candidosis bucal continúa siendo la infección más frecuente en los pacientes con VIH/SIDA. La alta frecuencia de resistencia a fluconazol observada hace necesario considerar otras opciones terapéuticas para el tratamiento de CB.

ÍNDICE

Abreviaturas	I
Índice de Cuadros	II
1. Marco teórico	1
1.1 Infección por VIH/SIDA	1
1.1.1 Epidemiología del VIH/SIDA en México y el mundo	1
1.1.2 Etiopatogenia de la infección por VIH/SIDA	1
1.1.3 Tratamiento del VIH/SIDA	5
1.1.4 Manifestaciones bucales en VIH/SIDA	6
1.2 Candidosis bucal en pacientes con VIH/SIDA	8
1.2.1 Especies de <i>Candida</i> en pacientes con VIH/SIDA	8
1.2.2 Factores de virulencia de especies de <i>Candida</i>	9
1.2.3 Respuesta inmune y candidosis bucal	12
1.2.4 Epidemiología en la candidosis bucal en pacientes con VIH/SIDA	15
1.2.5 Características clínica de candidosis bucal	15
1.2.6 Métodos diagnósticos para candidosis bucal	18
1.2.7 Tratamiento para candidosis bucal	20
1.2.8 Resistencia antifúngica a fluconazol	21
2. Planteamiento del problema	25
3. Justificación	26
4. Objetivos	27
4.1 Objetivo general	27
4.2 Objetivos específicos	27
5. Material y método	28
5.1 Diseño del estudio	28
5.2 Procedimientos clínicos	28
5.3 Procedimientos de laboratorio	30
5.4 Variables	34
5.5 Operacionalización de variables	34
5.6 Análisis estadístico	37

6. Resultados	38
7. Discusión	46
8. Conclusiones	53
9. Limitaciones	54
10. Perspectivas	55
11. Referencias	56
12. Anexos	63
12.1 Anexo 1. Criterios para el inicio de la terapia antirretroviral	63
12.2 Anexo 2. Medicamentos para el tratamiento de VIH (FDA)	64
12.3 Anexo 3. Consentimiento informado	67
12.4 Anexo 4. Ficha de recolección de datos	69
12.5 Anexo 5. Sialometría	70
12.6 Anexo 6. Examen intrabucal	71
12.7 Anexo 7. IHOS	72
12.8 Anexo 8. Criterios clínicos de candidosis bucal	73
12.9 Anexo 9. Criterios microscópicos para diagnóstico de candidosis bucal	74
12.10 Anexo 10. Hoja de recolección de resultados microbiológicos	75

ABREVIATURAS

ACTG	Grupo de Ensayos Clínicos del SIDA
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADS	Agar dextrosa Sabouraud
AHM	Agar harina de maíz
ALF	Leucocitos asociados a función
AMH	Agar Mueller Hinton
CB	Candidosis bucal
CEC	Clínica Especializada Condesa
CENSIDA	Centro Nacional para la Prevención y Control del VIH/SIDA
CI	Candidosis invasiva
CLSI	Clinical and Laboratory Standard Institute
CM	Candidosis mucosa
CPA	Células presentadoras de antígenos
CPH	Complejo principal de histocompatibilidad
Csp	<i>Candida</i> sp.
ENA	Encuesta Nacional para las Adicciones
FDA	Food and Drug Administration
IF	Inhibidores de fusión
IHOS	Índice de higiene oral simplificado
IL	Interleucina
INCMNSZ	Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán
INNTR	Inhibidores no análogos de los nucleósidos de la transcriptasa inversa
INTR	Inhibidores análogos de los nucleósidos de la transcriptasa inversa
IP	Inhibidores de proteasas
KOH	Hidróxido de potasio
MBL	Lectinas fijadoras de manosa
ml	Mililitros
mm	Milímetros
OHARA	Alianza de Investigación Oral con VIH/SIDA (por sus siglas en inglés)
PAMP's	Patrones moleculares asociados a patógenos
PBS	Phosphated Buffered Saline
PMN	Polimorfonucleares
SAP's	Aspartil proteasas
SIDA	Síndrome de inmunodeficiencia adquirida
SSA	Secretaría de Salud
TARAA	Tratamiento antirretroviral altamente activa
TNF	Factor de necrosis tumoral
UAM	Universidad Autónoma Metropolitana
UASLP	Universidad Autónoma Metropolitana de San Luis Potosí
UB	Unidades de bebida
UFC	Unidades formadoras de colonias
UNAIDS	Joint United Nations Program on HIV/AIDS
VIH	Virus de inmunodeficiencia humana
YDP	Yeast-dextrose-peptone

ÍNDICE DE CUADROS

1. Cuadro 1. Clasificación manifestaciones bucales VIH/SIDA	7
2. Cuadro 2. Prevalencia de candidosis bucal en diferentes países	17
3. Cuadro 3. Principales antifúngicos tópicos y sistémicos	23
4. Cuadro 4. Clasificación capacidad de producción de biopelícula	35
5. Cuadro 5. Características clínicas de 120 pacientes VIH/SIDA	41
6. Cuadro 6. Valores de laboratorio y uso y tiempo de TARA	42
7. Cuadro 7. Distribución especies de <i>Candida</i>	43
8. Cuadro 8. Factores de virulencia, UFC y resistencia a fluconazol en colonización e infección	44
9. Cuadro 9. Factores de virulencia, UFC y resistencia a fluconazol en especies de <i>Candida</i>	45

1. Marco teórico

1.1. VIH/SIDA

1.1.1. Epidemiología VIH/SIDA

A pesar del impacto que ha tenido la terapia antirretroviral altamente activa (TARAA) en la morbimortalidad de la infección por VIH/SIDA, en 2014, el Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (UNAIDS) publicó en su reporte global que a nivel mundial existían 37.2 millones de personas con VIH en 2013 (Global Statistics UNAIDS 2014).

En México, hasta el 30 de septiembre de 2013 se han notificado 166,370 casos de SIDA (1983 a 2013), el 82.1% en hombres, siendo los estados con mayor número de casos registrados la Ciudad de México (25,410), el Estado de México (17,554), Veracruz (15,069) y Jalisco (12,352). La prevalencia de infección por VIH en nuestro país está estimada en 0.24%, con un total de 4,737 defunciones hasta el 2012 (CENSIDA 2013).

1.1.2. Etiopatogenia de la Infección por VIH/SIDA.

El VIH es un retrovirus que pertenece a la familia de los *Lentivirus* (Levy 2009); del que actualmente se conocen dos tipos de virus, el VIH-1 y el VIH-2, distinguibles entre sí por variaciones en los genes de la envoltura viral. Se han identificado diferentes subtipos del VIH-1, aunque sólo nueve han sido reconocidos (A-D, F-H y J-K) (Pandit y cols. 2013, Levy 2009), el E, I y G se reconocen como virus recombinantes. Los principales subtipos son el M, N y O, siendo el M el responsable de la mayoría de las infecciones. Hasta la fecha, muy pocas infecciones se han relacionado con el tipo VIH-2 (Levy 2009) debido probablemente a su baja transmisibilidad (Takeuchi y cols 2013); este virus fue

descubierto dos años después que el VIH-1 y consiste en ocho grupos diferentes de los cuales el A y B son los más comunes (Takeuchi y cols 2013, Levy 2009).

El genoma del VIH está compuesto por tres genes mayores o principales conocidos como gag, pol y env. Los productos del gen pol son segmentados para generar tres enzimas: la proteasa, la transcriptasa inversa (transcriptasa/RN-asa) y la integrasa. Estas enzimas participan en el ciclo vital del virus, la transcriptasa inversa se encarga de convertir el ARN viral en ADN proviral, la integrasa integra el ADN viral en el ADN de la célula diana y la proteasa corta largas cadenas de proteínas para ensamblar a los viriones (Williams y cols. 2012; Aquaro y cols. 2006; Reeves y cols. 2004).

El tropismo que tiene el VIH es primariamente dado por co-receptores de linfocitos CD4+ a través del receptor CXCR4, también por receptores de interleucinas en macrófagos el CCR5 y los virus afines a éste son conocidos como R5; VIH-1 y VIH-2 pueden unirse a otros receptores como CCR3 y CC2b pero no están involucrados en la infección. Así mismo, la entrada del VIH a las células CD4+ y a macrófagos es facilitada por la neutralización del virus (mediante fragmentos del complemento o anticuerpos) a través de receptores del complemento y Fc. (Cashin y cols 2013, Swanstrom y Coffin 2012, Levy 2009, Repentigny 2004) Algunas proteínas de unión como algunas lectinas, antígenos de leucocitos asociados a función (ALF), moléculas de adhesión como ICAM y VCAM e integrina a4b7, también han sido asociadas con la infección por VIH (Levy 2009).

El primer paso para la infección es la unión del VIH a la célula a través de receptores y moléculas de adhesión para la fusión posterior entre la gp41 (proteína transmembrana de la cápside) del virus y un receptor de fusión de la célula generalmente un glucopéptido; dicha interacción permite la entrada de la cápside a la célula. La transcripción inversa y la consecuente integración se inician, con lo que las células infectadas se convierten en depósitos persistentes para el virus y fuentes de transmisión.

Durante la infección temprana, la inducción de quimiocinas provoca la atracción de más células diana hacia el sitio de infección (Miedema y cols. 2013, Levy 2009).

Los virus R5 se encuentran principalmente en la infección aguda debido a que éstos se replican más rápido, producen cantidades elevadas de progenie del virus, tienen más susceptibilidad por células blanco CCR5 y CD4+, pueden infectar células no activadas así como macrófagos y células dendríticas, ya que los virus R5 son menos reconocidos por el sistema inmune. Se ha sugerido que después de la infección por virus R5 estos sufren un tropismo-dual a virus R5/X4 y posteriormente a virus X4 (Cashin y cols. 2013, Swanstrom y Coffin 2012, Levy 2009, Repentigny 2004).

Después de seis meses, la mayoría de los pacientes entran en un periodo asintomático donde los niveles de copias del virus son menores de 20,000 copias/ml. Este periodo refleja la participación de la respuesta inmune innata y adaptativa donde se ven involucradas lectinas fijadoras de manosa (MBL), el complemento, anticuerpos anti-VIH, así como células NK y células T. La subsecuente infección parece llevarse a cabo en los ganglios linfáticos donde la progresión de la misma puede llevar a la destrucción de tejido linfoide (Abbas y cols. 2013, Levy 2009).

Durante el curso de la enfermedad la inmunidad se ve afectada por diversos factores uno de ellos es la pérdida de células CD4+ que puede predisponer a los individuos con VIH a infecciones oportunistas o a algunos tipos de cáncer (Levy 2009); la disminución de estas células también puede verse afectado por el aumento de síntesis de citocinas principalmente TNF- α , que se asocia con aumento de la replicación de VIH y a muerte de células CD4. De igual manera, la muerte de CD4+ se ve aumentada por la alteración en la integridad de la membrana y por modificaciones en el metabolismo de estas células por el VIH causando necrosis (Abbas y cols. 2013, Levy 2009, Repentigny 2004).

Además de la disminución de CD4+, otro factor que influye en la patogénesis de la enfermedad es la activación crónica del sistema inmune. Una respuesta hiperinmune con constante producción de citocinas pro-inflamatorias puede mejorar la producción del VIH y aumentar la pérdida y apoptosis de CD4+ y CD8+, siendo las principales citocinas que participan en este proceso el TNF- α y la IL-17, la cual está asociada con algunos subtipos de CD4+, específicamente con Th-17 ya que estas células ayudan a combatir infecciones bacterianas y micóticas y su número se ha encontrado disminuido en el tracto gastrointestinal de algunos pacientes infectados con VIH (Abbas y cols. 2013, Levy 2009).

Otros factores que alteran el proceso patogénico de la infección por VIH es la infección concomitante por otros virus, ciertos polimorfismos en el locus HLA, factores genéticos como expresión receptores de quimiocinas CCR5, homocigosidad para la variante de alelos MBL2 y más recientemente se ha relacionado a la alipoproteína E4 con aceleramiento de la infección por VIH (Swanstrom y Coffin 2012, Levy 2009, Repentigny 2004).

La respuesta inmune del huésped ante la infección por el VIH involucra tanto la participación del sistema innato, como del adaptativo humoral y celular. En la respuesta innata participan principalmente proteínas fijadoras de manosa (MBL's), el complemento, células dendríticas, macrófagos, CD4+, CD8+ y NK (Abbas y cols. 2013, Levy 2009).

En la respuesta adaptativa participan principalmente anticuerpos, algunos de los cuales actúan neutralizando a las proteínas gp120 y gp141 y en algunas ocasiones pueden participar anticuerpos que neutralizan receptores de superficie celular del huésped como FLA, ICAM y HLA (Swanstrom y Coffin 2012, Levy 2009, Repentigny 2004).

1.1.3. Tratamiento del VIH/SIDA

El inicio del tratamiento antirretroviral está recomendado para los pacientes con niveles menores de 350 células CD4+ independientemente de la presencia o no de síntomas o manifestaciones asociadas al VIH/SIDA. Los criterios para el inicio de la terapia antirretroviral se detallan en el Anexo 1 (Guía del manejo antirretroviral en personas con VIH SSA/CENSIDA 2014).

Existen seis grandes grupos de antirretrovirales (Williams y cols. 2012; Aquaro y cols. 2006; Reeves y cols. 2004) aprobados por la Food and Drugs Administration (FDA) de Estados Unidos de América para el tratamiento de la infección por VIH:

1. Inhibidores de la transcriptasa inversa/análogos de los nucleósidos o nucleótidos (INTR).

Presentan similitud estructural con los 2-desoxinucleósidos naturales y compiten tanto con bases púricas como pirimidínicas. Son pro-fármacos que requieren activación intracelular que se fosforilan en el interior de la célula mediante enzimas convirtiéndose en nucleótidos. Al integrar un análogo de los nucleótidos trifosforilado se bloquea la elongación del DNA complementario, por tanto actúan como terminadores de la cadena (Williams y cols. 2012; Aquaro y cols. 2006; Reeves y cols. 2004).

2. Inhibidores de la transcriptasa inversa/ análogos no nucleósidos. (INNTR)

Los inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa inversa inhiben el sitio activo de esta enzima. Bloquean la actividad de ADN polimerasa causando un cambio conformacional y alterando el sitio activo de la enzima (Williams y cols. 2012; Aquaro y cols. 2006; Reeves y cols. 2004).

3. Inhibidores de la proteasa (IP)

En su proceso de replicación el VIH produce cadenas largas de proteínas que necesitan fragmentarse en trozos más pequeños que forman las proteínas y enzimas que ayudan a construir las nuevas

copias del virus. La fragmentación de las cadenas más largas está producida por la proteasa y los medicamentos inhibidores impiden que la fragmentación tenga lugar (Williams y cols. 2012; Aquaro y cols. 2006; Reeves y cols. 2004).

4. Inhibidores de entrada (de adhesión y de fusión (IF))

Interfieren en la entrada del virión a la célula humana, bloqueando las proteínas en los linfocitos CD4 que el VIH necesita para penetrarlos.

Actúan a nivel de los diferentes receptores: CD4, localizado en la superficie de las células T CD4+; gp120, que se encuentra en la superficie del VIH. CCR5, un correceptor que se encuentran en la superficie de las células CD4+; CXCR4 que es otro co-receptor de quimiocinas que se encuentra en las células CD4+ y finalmente gp41, una proteína del VIH que penetra en la membrana de la célula (Williams y cols. 2012; Aquaro y cols. 2006; Reeves y cols. 2004).

5. Inhibidores de integrasa: Estos fármacos actúan inhibiendo la enzima integrasa, que es la responsable de la integración del material genético del virus en el DNA de la célula infectada.

Los medicamentos para el tratamiento del VIH autorizados por la FDA se presentan en el Anexo 2.

1.1.4. Manifestaciones bucales del VIH/SIDA

Desde los inicios del VIH/SIDA se ha considerado a las manifestaciones bucales como una parte importante por su valor diagnóstico y pronóstico de la enfermedad (Shiboski y cols. 2009, Aguirre y cols. 2004). La terapia antirretroviral altera la prevalencia de las lesiones relacionadas a la enfermedad (Patton y cols. 2013, Coogan y cols. 2005) ya que interfiere con la replicación del virus, permitiendo el aumento de células del sistema inmune, principalmente linfocitos CD4+.

El Grupo de Ensayos Clínicos del SIDA (ACTG) creó en 2006 a la Alianza para la investigación del VIH/SIDA en la mucosa bucal denominada OHARA (por sus siglas en inglés) con el objetivo de investigar las manifestaciones bucales asociadas a estas entidades (Shiboski y cols. 2011, Shiboski y cols. 2009). Son más de 40 manifestaciones bucales las que se han asociado en mayor o menor medida con la infección por VIH/SIDA, que han sido clasificadas de acuerdo a su etiología en micóticas, virales, bacterianas, neoplásicas y otras (Cuadro 1) (Shiboski y cols. 2009). De todas ellas, la candidosis bucal y orofaríngea (Patton y cols. 2013, Coogan y cols. 2005) continúa siendo la más frecuente (Patton y cols. 2013, Aguirre y cols. 2004).

Existen diversos factores que se han asociado con la prevalencia de manifestaciones bucales en los pacientes con VIH/SIDA, entre los que se encuentran el recuento de linfocitos CD4+ menor de 200 células/mm³ (Nishimura y cols. 2013, Maurya y cols. 2013, Prakash y cols. 2012, Miziara y cols. 2008), y los conteos de carga viral mayores a 10,000 copias/ml (Nishimura y cols. 2013, Back-Brito y cols. 2009, Patton y cols. 2013, Tamí-Maury y cols. 2011, Gaurav y cols. 2011, da Silva y cols. en 2008; Carpio y cols. 2009).

Cuadro 1. Clasificación de manifestación bucales, grupo OHARA (Shiboski y cols. 2009)

Principales manifestaciones bucales por VIH/SIDA	
<i>Infecciones micóticas</i>	<i>Neoplasias</i>
Candidosis pseudomembranosa	Sarcoma de Kaposi
Candidosis eritematosa	Linfoma no Hodgkin
Queilitis angular	Carcinoma escamocelular
<i>Infecciones bacterianas</i>	<i>Idiopáticas</i>
Gingivitis necrotizante	Estomatitis aftosa recurrente
Periodontitis necrotizante	Estomatitis ulcerativa necrotizante
<i>Infecciones virales</i>	
Leucoplasia vellosa	
Lesiones por VPH	
Herpes labial e intrabucal recurrente	

1.2. Candidosis bucal

La especie *Candida* es un microorganismo común de la cavidad bucal, componente de la microbiota bucal normal, microorganismos mantienen un equilibrio dinámico, previendo el establecimiento de infecciones oportunistas (Repentigny 2004, Aguirre 2002). Su crecimiento se encuentra asociado a factores locales o sistémicos como el flujo y la composición de la saliva, el pH, la integridad del epitelio y la respuesta inmunológica (Repentigny 2004, Aguirre 2002).

Se considera que *Candida sp.* se encuentra colonizando la cavidad bucal, cuando su crecimiento está controlado tanto por las células del sistema inmunológico como por otros microorganismos evitando el daño a los tejidos. (Gümürü BT 2011, Gow y cols. 2013) Cuando existe una alteración en la microbiota bucal o en el sistema inmunológico permitiendo que el hongo penetre e invada los tejidos, es cuando se establece la infección por el microorganismo (candidosis bucal). (Niimi y cols. 2010, Gow y cols. 2013).

1.2.1. Especies de *Candida* en pacientes con VIH/SIDA

El aislamiento (separación de un determinado microorganismo del resto que lo acompaña) de *Candida sp.* ha sido utilizado como método diagnóstico y para establecer su prevalencia y resistencia antifúngica, así como para la identificación del tipo de especie y analizar sus factores de virulencia. Si bien se han identificado entre 150 y 200 especies diferentes de *Candida*, la más importante, por su alta frecuencia como comensal o patógeno, es *Candida albicans*, que además puede ser la especie más virulenta para el hombre. Otras especies *Candida* comúnmente aisladas de infecciones bucales son: *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. guilliermondi* (Parihar y cols. 2011).

Asimismo, en los pacientes con VIH/SIDA la especie aislada con mayor frecuencia es *C. albicans*, reportada con cifras que van de 47.1% (Prakash y cols. 2012) a 78.5% (Mulu y cols. 2013); sin

embargo, se han encontrado otras especies en diferentes proporciones, como *C. glabrata* (1.8-17%), (Owotade y cols. 2013, Cassone y cols. 2012, Silva y cols.2010), *C. krusei* (0.6-4.7%), (Owotade y cols. 2013, Cassone y cols. 2012, Silva y cols.2010) y *C. tropicalis* (5-22.8%) (Owotade y cols. 2013, Cassone y cols. 2012, Silva y cols.2010). En otros estudios, *C. dubliniensis* representa la especie *Candida no albicans*, más frecuentemente encontrada en aislamientos de pacientes con VIH/SIDA con cifras de 1.5% (Kwamin y cols. 2013) a 12% (Patel y cols. 2012).

1.2.2. Factores de virulencia de especies de *Candida* en pacientes VIH/SIDA

C. albicans es un hongo diploide que presenta una fase sexual y diferentes formas de crecimiento; unicelular cuando es levadura y multicelular cuando está en forma de hifa. Las estructuras filamentosas denominadas hifas o pseudohifas se forman mediante un proceso de transición dimórfico, a través de la formación de tubos germinales cortos a partir de células de levaduras (Cassone y cols. 2012). Estos tubos germinales sufren alargamiento y ramificación y forman verdaderos micelios o pseudomicelios que forman redes y junto con neutrófilos, macrófagos, matriz tisular y restos celulares, forman biopelículas (Cassone y cols. 2012, Hasan 2009).

Las especies de *Candida* presentan diversos factores de virulencia, como las adhesinas, el dimorfismo, el *switching* fenotípico y la producción de algunas enzimas hidrolíticas como la aspartil proteasa (Cassone y cols. 2012, Jacobsen y cols. 2012, McCullough y cols. 2011, Mane y cols. 2012, Repentigny 2004).

Cuando *C. albicans* se encuentra en forma de levadura, es más tolerada y su crecimiento se encuentra controlado por diversos factores de la inmunidad innata y adaptativa; en contraste, cuando se encuentran en forma de hifas, presenta una mayor virulencia y mayor capacidad de adhesión a las células epiteliales a través de proteínas de adhesión (transglutaminasas, fibronectina, laminina,

fibrinógeno y colágenos). Estas estructuras filamentosas son más resistentes a la fagocitosis y tienen la capacidad de penetrar el epitelio a través de poros o soluciones de continuidad utilizando un mecanismo denominado tigmotropismo, el cual guía a través del contacto con el epitelio hasta encontrar un medio adecuado (solución de continuidad) y penetrar el tejido (Cassone y cols. 2012).

La capacidad de penetrar e invadir los tejidos por *C. albicans* no sólo depende de su capacidad de transformación a hifa o pseudohifa, sino también a la secreción de diversas enzimas que ayudan a la degradación de los tejidos como fosfolipasas y proteasas, (Mane y cols. 2012, Cassone y cols. 2012) principalmente la aspartil proteasa, enzima proteolítica capaz de degradar proteínas de matriz de superficie celular como queratina, fibronectina e incluso e-cadherina, que sirve de unión entre las células epiteliales; además puede hidrolizar anticuerpos y elementos del complemento. Esta enzima provoca daño a los tejidos y facilita la invasión por hifas de *C. albicans* (Cassone y cols. 2012).

Uno de los principales mecanismos de virulencia de *C. albicans* es su capacidad de formar biopelículas a través de secreción diversas adhesinas y la formación de filamentos, que le confieren mayor capacidad de adhesión a los tejidos facilitando su colonización e infección. *C. albicans* puede cambiar las características fenotípicas de sus colonias, fenómeno conocido como *switching* fenotípico, que consiste en modificar su color de brillante a opaco, su superficie de lisa a rugosa o cambiar de contornos precisos a irregulares. Esta modificación puede ser reversible, de acuerdo a las alteraciones del ambiente, permitiéndole su supervivencia a este microorganismo. Tanto la formación de biopelículas (Cassone y cols. 2012, Hasan y cols. 2009) como el *switching* (Cassone y cols. 2012) se han relacionado con la resistencia a medicamentos antimicóticos principalmente a fluconazol (Cassone y cols. 2012, Hasan y cols. 2009).

Como se describió anteriormente, los diversos factores de virulencia con los que cuenta *C. albicans*, permiten considerarla la especie más virulenta. No todas las especies poseen los mismos mecanismos, se ha reportado a *C. dubliniensis* como una de las especies más frecuentemente encontradas en aislamientos de individuos inmunocomprometidos incluyendo pacientes con VIH/SIDA (Owotade y cols. 2013, Cassone y cols. 2012, Silva y cols. 2010) y a pesar de que *C. dubliniensis* comparte algunas características fenotípicas de *C. albicans* como la producción de blasto esporas y tubos germinales (Silva y cols.2010) su transformación a hifa es limitada (Khan y cols. 2012). Sin embargo, este incremento podría atribuirse a tratamientos previos con fluconazol (Patel y cols. 2012, Khan y cols. 2012, Nogueira y cols. 2011, Martínez y cols. 2002, Zepelin y cols. 2002) ya que algunos estudios han reportado que puede mejorar la adhesión de *C. dubliniensis* al epitelio oral (Khan y cols. 2012, Nogueira y cols. 2011 Martínez y cols. 2002, Zepelin y cols. 2002) ya que en presencia de este antifúngico hay una sobreexpresión de moléculas en su superficie que facilitan la adhesión y la sustitución de *C. albicans* por esta especie y de otras especies *Candida no albicans* (Martínez y cols. 2002, Zepelin y cols. 2002).

Especies como *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. krusei* presentes frecuentemente en pacientes con VIH/SIDA, poseen algunos de los factores antes mencionados. En un estudio reciente se observó que tienen capacidad de adhesión a células epiteliales reportado para *C. tropicalis* en 100%, *C. glabrata* 75% y *C. krusei* 83%; producción de enzimas como proteasas y fosfolipasas 44% y 33% para *C. tropicalis* y 12.5% para ambas enzimas en *C. glabrata* y 50% en producción de proteasas para *C. krusei* ya que no se observó síntesis de fosfolipasas en esta especie (Mane y cols. 2012).

En otro estudio realizado por Hasan y cols. (2009) se observó la capacidad de formación de biopelícula de acuerdo al tipo de especie y reportó que *C. albicans* y *C. krusei* tienen mayor capacidad de formación de biopelícula que otras especies y lo relacionaron con un crecimiento lento y no a la

capacidad de adhesión además de ser un factor importante en el mantenimiento de la infección (Hasan y cols. 2009).

Mukherjee y cols. (2005) encontraron que la capacidad de formación de biopelícula también es dependiente de la especie, y que incluso algunas de ellas necesitan de otras generalmente de *C. albicans* para formar biopelículas ya que por sí solas son incapaces como es el caso de *C. glabrata*. Además se observó que la formación de biopelículas está muy relacionada con la resistencia antifúngica ya que impiden la penetración de los fármacos antifúngicos al interior de la biopelícula (Mukherjee y cols. 2005). En otro estudio realizado por Sánchez-Vargas y cols. (2013) en pacientes diabéticos, se observó que *C. glabrata* tiene una alta capacidad de formación de biopelícula, *C. albicans* y *C. tropicalis* son moderados productores de biopelícula y que puede variar de acuerdo a la fase de crecimiento en que se encuentren (Sánchez-Vargas y cols. 2013).

La presencia de estos factores de virulencia no son suficientes para el inicio y establecimiento de la infección, ya que si bien el grado de patogenicidad de *Candida sp.* juega un papel muy importante en el desarrollo de candidosis, no es el único factor ya que se debe considerar la predisposición del huésped para el establecimiento de la infección (Aguirre 2002).

1.2.3. Respuesta inmune y candidosis bucal en pacientes con VIH/SIDA

Diversos elementos tanto de la inmunidad innata como adaptativa participan en la respuesta contra *Candida sp.* La respuesta inicia con la identificación del hongo por parte de leucocitos (neutrófilos, monocitos y leucocitos) y células epiteliales a través de patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP's), expresados por *Candida* en diferentes estadios de su crecimiento y reconocidos por las células inmunológicas mediante receptores tipo toll (TLR2 y TLR4) y de lectina tipo-C (Dectina 1 y 2, receptor de manosa, etc.) (Netea y cols. 2008, Netea y cols. 2004, Gow y cols. 2011, Lewis y cols.

2012). Los monocitos, macrófagos y polimorfonucleares (PMN) son las únicas células reportadas con efecto contra *Candida* utilizando mecanismos tanto dependientes como independientes de oxígeno. Los queratinocitos además de que constituyen una barrera física después de la adhesión de *Candida*, participan en la producción de numerosos factores solubles que regulan la respuesta inmune (TNF- α , INF- γ , IL-1, IL-3, IL-6-8, IL-10, IL-12, IL15, IL-18 e IL-20).

Adicionalmente, los queratinocitos expresan moléculas de adhesión como CD54, CD58 y el complejo principal de histocompatibilidad (CPH) de clase I y II, produciendo infiltración de linfocitos T, que actúan como células accesorias en la presentación de antígenos. El papel de la inmunidad adaptativa está relacionado con células de la inmunidad innata principalmente células de Langerhans que participan como células presentadoras de antígenos (CPA) de *Candida* a células CD4+ mediante el CPH clase II. Cuando estos linfocitos entran en contacto con el antígeno se activan y contribuyen en la producción de interleucinas (IL-12 e INF- γ) por las CPA que inducen respuesta de células Th1 con la posterior diferenciación de CD8+ a linfocitos citotóxicos los cuales contienen enzimas citolíticas que actúan contra células de *Candida* controlando la infección (Repentigny 2004, Cassone y cols. 2012, McCullough y cols. 2011). El tipo de célula Th que participa en la respuesta inmune, lo determina el morfotipo de *Candida*, se ha observado que hay un mayor reconocimiento por los receptores TLR4 cuando se encuentra en forma de levadura induciendo la producción de interleucinas tipo Th1 como INF- γ (Netea y cols. 2004, Lewis y cols. 2012). En contraste cuando *Candida* se encuentra en forma de hifa activa receptores TLR2 e induce una respuesta débil de Th1 promoviendo la expansión de Th2 y células T reguladoras debido al incremento de IL-10 suprimiendo la respuesta contra *Candida* (Netea y cols. 2004, Lewis y cols. 2012).

Los mecanismos de discriminación entre levaduras colonizantes e hifas invasoras por parte de macrófagos y células dendríticas epiteliales no son del todo claros; sin embargo, se ha descrito la

participación de células Th17 e inflamasomas (Cheng y cols. 2011, Lewis y cols. 2012). Cuando los receptores de patógenos de estas células son activados por PAMP's de la pared celular de *Candida*, se induce la transcripción de pro-IL-1 β que bajo condiciones colonizantes no es transformada a su forma activa por la limitada disponibilidad de caspasa-1 (Cheng y cols. 2011, Lewis y cols. 2012). Cuando existe daño epitelial se activa el inflamasoma NLRP3, permitiendo la activación de caspasa-1 y la transformación de pro-IL-1 β a IL-1 β activada, induciendo la respuesta de Th17 que incluye la producción de IL-17, IL-22 y el reclutamiento de neutrófilos asesinos de hifas, así como la optimización de la respuesta epitelial a través de la producción de defensinas (Cheng y cols. 2011, Lewis y cols. 2012).

En los pacientes con VIH, los principales factores inmunológicos que se ven alterados y que se han relacionado con candidosis, es la disminución de la respuesta inmunológica ocasionando neutropenia y niveles bajos de linfocitos CD4+ (Levy 2009 y Repentigny y cols. 2004).

Se ha descrito que la candidosis pseudomembranosa bucal y esofágica está relacionada con estadios tardíos de la infección por VIH/SIDA y con niveles de CD4+ menores a 200/mm³, mientras que la candidosis eritematosa y la queilitis angular se presentan en estadios tempranos de la enfermedad (Repentigny 2004). Back-Brito y cols. en 2009 reportaron que no hubo diferencia estadísticamente significativa entre conteo de CD4+ y la candidosis bucal, pero sí con niveles elevados de carga viral a diferencia de Prakash que no consideró niveles de carga viral para su estudio (Back-Brito y cols. 2009). Recientemente Nishimura y cols. en 2013 reportaron que sí existe asociación entre la presencia de candidosis bucal, conteo de CD4+ y niveles altos de carga viral; así mismo Maurya y cols. 2013 también encontraron diferencia significativa entre conteo de CD4+ e infección por *Candida*, sin embargo no consideraron dentro de sus variables carga viral.

1.2.4. Epidemiología de la candidosis bucal en pacientes con VIH/SIDA

La candidosis bucal representa la infección fúngica más común en los pacientes con VIH/SIDA (Patton y cols. 2013), su prevalencia en años recientes en pacientes con terapia antirretroviral, ha sido reportada con porcentajes que van del 3.9% (da Silva y cols. 2008) al 27.1% (Ortega y cols. 2009). Otros estudios realizados en poblaciones en las que los pacientes no están con TARAA reportan frecuencias de 37.5% (Mulu y cols. 2013) y 37.8% (Tamí-Maury y cols. 2011). La mayoría de estudios han reportado diferencias estadísticamente significativas entre la disminución de candidosis bucal y el inicio de la TARAA debido a los cambios que ocasiona la terapia en el sistema inmunológico, como el estudio elaborado por Tamí-Maury en el cual reporta una prevalencia de candidosis bucal al inicio de su estudio de 37.8% cuando los pacientes incluidos aún no iniciaban TARAA, posteriormente una vez iniciada la terapia reportan una incidencia de 14.9% durante los dos años de seguimiento (Tamí-Maury y cols. 2011). La información completa de los artículos citados en este apartado se presenta en el Cuadro 2.

1.2.5. Características clínicas de candidosis bucal en pacientes con VIH/SIDA.

El grupo OHARA en 2009 estableció las siguientes características clínicas para la identificación de candidosis bucal (Shiboski y cols. 2009).

Candidosis pseudomembranosa. Se observa como manchas o placas blancas de consistencia cremosa de color blanco o amarillo, que pueden estar localizadas en cualquier parte de la mucosa bucal (Shiboski y cols. 2009) pero se presenta principalmente en mucosa yugal, bordes laterales de lengua y orofarínge, (Coronado y cols. 2013) que pueden ser desprendidas y dejar una superficie eritematosa.

Candidosis eritematosa. Se presenta como eritema o áreas rojas usualmente localizadas en paladar y dorso de lengua y ocasionalmente en mucosa yugal. Puede coexistir con manchas o placas blancas de

candidosis pseudomembranosa. (Shiboski y cols. 2009) Cuando afecta dorso de lengua puede haber atrofia de las papilas filiformes y dar la apariencia de una superficie lisa (Coronado y cols.2013).

Queilitis angular. Son fisuras rojas o blancas o úlceras lineales localizadas en las comisuras de los labios.

Cuadro 2. Prevalencia de CB y principales especies aisladas en pacientes con VIH/SIDA reportada en difer

Autor	País	Población	Candidosis	Colonización	Tipo de candidosis (C)	Principales especies aisladas		TARAA
		n	%	%		Tipos	%	%
Berberi y cols. 2015	Líbano	50	76%	–	C. bucal	–	–	–
Nishimura y cols. 2013	Japón	733	8.5	–	C. esofágica	–	–	74.4
Owotade y cols. 2013	Sudáfrica	197	9.1	59.4	C. bucal	<i>C. albicans</i> <i>C. dubliniensis</i> <i>C. tropicalis</i>	71.0 11.0 7.0	94.4 (ARVT)
Mulu y cols. 2013	Etiopía	215	37.5	82.3	C. bucal y orofaríngea	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. tropicalis</i>	78.5 22.5 14.1	Sin tratamiento
Prakash y cols. 2012	India	150	–	35.3	C. bucal	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i> <i>C. glabrata</i>	47.1 8.0 5.0	33.3
Anwar y cols. 2012	India	165	48.4	–	C. bucal y esofágica	<i>C. albicans</i> <i>C. guilliermondi</i> <i>C. parapsilosis</i>	61.7 14.9 9.6	NE ARVT
Patel y cols. 2012	EU.	215	–	81.8	C. orofaríngea	<i>C. albicans</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. dubliniensis</i>	62.0 17.0 12.0	69.0 ARVT
Tamí-Maury y cols. 2011	EU	744	37.8	–	C. orofaríngea	–	–	52.8
Khatibi y cols. 2011	Irán	200	16.5	–	C. bucal	–	–	–
Lourenco y cols. 2011	Brasil	388	15.8	–	C. bucal	–	–	79.9 ARVT
Jeddy y cols. 2011	India	36	58.3	–	C. bucal	<i>C. albicans</i> <i>C. krusei</i>	90.0 10.0	–
Nittayananta y cols. 2010	Tailandia	157	4.4	–	C. bucal	–	–	63.0
Ortega y cols. 2009	Brasil	1595	27.1	–	C. bucal	–	–	57.9
Back-Brito y cols 2009	Brasil	90	–	60%	C. bucal	<i>C. albicans</i> <i>C. tropicalis</i> <i>C. glabrata</i>	75.3 21.0 1.0	43.0
Baradkar y cols. 2009	India	61	–	66.6	C. bucal	<i>C. albicans</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. glabrata</i>	70.0 15.0 7.5	–
Da Silva y cols. 2008	Brasil	993	3.9	–	C. bucal	–	–	66.4
Aquino-García y cols. 2008	México	73	21.9	–	C. bucal	–	–	100
Giuliani y cols. 2008	Italia	130	4.6	–	C. bucal	–	–	79.2
Lusvarghi y cols. 2008	Brasil	193	18.1 (clínica)	–	C. bucal	<i>C. albicans</i>	47.7	86.5

*ARVT (Terapia antirretroviral), TARAA (Tratamiento antirretroviral altamente activo) / †(mediana), ††(media). Los espacios vacíos corresponden a variables que no fueron incluidas en el estudio.

1.2.6. Métodos diagnósticos para candidosis bucal

Si bien el diagnóstico de la candidosis bucal es esencialmente clínico y se basa en el reconocimiento de las características que presentan las lesiones (Coronado y cols. 2013), el diagnóstico se debe confirmar a través del análisis microscópico o mediante aislamientos a través de cultivos. Cabe mencionar que si un cultivo resulta positivo para *Candida*, no significa que el paciente tenga candidosis ya que este microorganismo es un comensal común de la microbiota bucal, es por ello que se tiene que realizar la correlación con las características clínicas y la confirmación microscópica de invasión tisular (Coronado y cols. 2013).

El estudio microbiológico se requiere cuando existen dudas diagnósticas, cuando hay resistencia antifúngica y para la identificación de la especie de *Candida* con el fin de establecer un tratamiento más eficaz. En el caso de candidosis hiperplásica siempre es necesaria la biopsia para descartar displasia epitelial (Coronado y cols. 2013).

La identificación de levaduras puede ser realizada con base a la identificación de cuatro criterios diferentes: morfológico y bioquímico (para el diagnóstico de candidosis bucal) o inmunológico y genético (para el diagnóstico de candidosis invasiva o diferenciación de especies) (Coronado y cols. 2013, Ahmad y cols. 2012).

La confirmación del diagnóstico de candidosis bucal puede ser realizada a través de la observación microscópica de *Candida* de muestras citológicas de lesiones sospechosas (criterios microscópicos morfológicos) y el aislamiento en cultivo (criterios macroscópicos morfológicos). La observación microscópica puede ser hecha con muestras frescas usando hidróxido de potasio al 10% (KOH) el cual disuelve las células epiteliales y deja a las de *Candida* intactas o puede utilizarse hidróxido de sodio al 15-30%. También se pueden preparar frotis o improntas seguidas por tinción de Giemsa, ácido

periyódico de Schiff (PAS) o tinción de Gram; en el caso de biopsias de candidosis hiperplásica se utilizará tinción de hematoxilina y eosina (HyE) y se observarán levaduras, micelios y pseudomicelios de *Candida* (Coronado y cols. 2013, Parihar y cols. 2011).

La observación macroscópica se realiza en placas de cultivo, el principal medio de cultivo utilizado es el agar dextrosa Sabouraud (ADS), el cual permite el crecimiento selectivo de hongos, se le puede añadir cloranfenicol o gentamicina con el fin de inhibir el crecimiento bacteriano. Con los cultivos se puede identificar la especie y el género de *Candida*. Para *C. albicans* se suele utilizar la prueba de filamentación temprana o la prueba de germinación y diferentes sueros. Para la identificación de especies *Candida no albicans* se pueden utilizar técnicas enzimáticas como son los medios cromogénicos que detectan la actividad de ciertas enzimas de la levadura a través de hidrólisis específica de un sustrato cromogénico en presencia de un indicador enzimático, (Coronado y cols. 2013) uno de los más utilizados es CHROMAgar® *Candida* (Coronado y cols. 2013, Abraham CM. 2011, Ellepola y cols. 2005).

Otras técnicas son las pruebas de asimilación de nutrientes donde se evalúa la capacidad fúngica de utilizar diferentes azúcares como única fuente de carbono, los medios usados contienen todos los nutrientes necesarios para su crecimiento excepto una fuente de carbono. Un azúcar es agregado posteriormente al medio y la capacidad del hongo para asimilar el azúcar se evalúa por su crecimiento en el medio de cultivo; a esta técnica también se le conoce como auxonograma (Coronado y cols. 2013). Dentro de los métodos más usados se encuentran API 20 C AUX y el API ID 32 C AUX (Coronado y cols. 2013, Ellepola y cols. 2005).

Existen también las técnicas inmunológicas que incluyen métodos basados en la detección de manano/anti-manano, de anticuerpos antimicelios, de otros anticuerpos y la detección de 1-3-β-D-

glucano. Estos procedimientos inmunológicos también incluyen pruebas de aglutinación de partículas de látex basado en el uso de anticuerpos monoclonales específicos (Coronado y cols. 2013, Ahmad y cols. 2012, Abraham CM. 2011, Ellepola y cols. 2005).

Asimismo, se pueden utilizar técnicas genéticas como reacción en cadena de polimerasa (PCR), (Coronado y cols. 2013, Ellepola y cols. 2005) a pesar de que éstas confieren una alta sensibilidad y especificidad, (Coronado y cols. 2013, Avni y cols. 2011, Ellepola y cols. 2005) tienen un costo elevado y no están disponibles en todos los centros hospitalarios (Coronado y cols. 2013, Ellepola y cols. 2005).

1.2.7. Tratamiento para candidosis bucal en pacientes con VIH/SIDA

En los pacientes con VIH/SIDA se deben considerar varios factores antes de seleccionar los agentes antifúngicos para el tratamiento de candidosis mucosa (CM) e invasiva (CI) (Vazquez 2010); es por ello que se han elaborado guías para el tratamiento de candidosis y se han discutido las mejores opciones terapéuticas para estos pacientes (Pappas y cols. 2009).

Existen diferentes antifúngicos tópicos y sistémicos para el tratamiento de candidosis bucal (Vazquez 2010, Baccaglini y cols. 2007), entre los principales se encuentran los polienos como nistatina y amfotericina B, inhibidores de la síntesis de pirimidina como la flucitosina; azoles como miconazol, clotrimazol, ketoconazol, itraconazol, fluconazol y posaconazol y recientemente otros antifúngicos han surgido como las equinocandinas dentro de las cuales se encuentra el micafungín, el caspofungin y el anidulafungin (Vazquez 2010, Pienaar y cols. 2010).

La terapia tópica es la primera línea recomendada para el tratamiento de candidosis bucal sin complicaciones (Akpan y cols. 2002, Baccaglini y cols. 2007) principalmente en pacientes con niveles de CD4+ mayores de $200\text{cel}/\text{mm}^3$, (Baccaglini y cols. 2007) ya que los efectos adversos que ocasionan

los antifúngicos sistémicos no ocurren con los tópicos (Akpan y cols. 2002). En un inicio se utilizaban aplicaciones de violeta de genciana para el tratamiento de candidosis pero se discontinuó su uso por que se desarrollaron resistencias y por sus efectos adversos, principalmente la tinción de mucosas (Akpan y cols. 2002, Vazquez 2010). Debido a lo anterior, fue sustituida por polienos, nistatina descubierta en 1951 y por anfotericina B descubierta en 1956, ninguno de ellos es absorbido por el tracto gastrointestinal (Akpan y cols. 2002).

La terapia sistémica es una opción para el tratamiento de candidosis bucal cuando existen pacientes intolerantes o resistentes a terapia tópica con alto riesgo de desarrollar infecciones sistémicas como podría ser el caso de candidosis orofaríngea y esofágica. En pacientes inmunocomprometidos los triazoles son la primera elección para este tipo de candidosis, dentro de los más importantes se encuentra el fluconazol (Lortholary y cols. 2012, Baccaglini y cols. 2007). Los principales antifúngicos tópicos y sistémicos utilizados para el tratamiento de candidosis bucal se describen en el cuadro 3.

1.2.8. Resistencia antifúngica en pacientes con VIH/SIDA.

La resistencia antifúngica en los pacientes con VIH/SIDA se ha relacionado con conteo bajo de CD4+, exposición prolongada al fármaco (Jeddy y cols. 2011) y a algunos factores de virulencia como el *switching* fenotípico (Cassone y cols. 2012), la capacidad de formación de biopelícula que impide la penetración del fármaco (Cassone y cols. 2012, Hasan y cols. 2009, Mukherjee y cols. 2005) y la producción excesiva de ciertas enzimas como lanosterol desmetilasa; (Williams y Lewis 2011) así como al incremento de especies *no albicans* involucradas en la infección por *Candida* principalmente *C. glabrata* y *C. krusei* (Jeddy y cols. 2011, Williams y Lewis 2011) que son menos sensibles a fluconazol (Jeddy y cols. 2011, Pappas y cols. 2009).

En los últimos años, en los pacientes con VIH/SIDA se ha incrementado la resistencia de *Candida* a los antifúngicos, principalmente a los azoles, grupo al que pertenece fluconazol (Williams y Lewis 2011).

Se han realizado diversos estudios analizando la susceptibilidad a antifúngicos, buscando brindar una terapia más eficiente para el tratamiento de esta infección. Badiee y cols. (2010) incluyeron a 273 pacientes con VIH y reportaron que todas las especies aisladas (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*) fueron sensibles a ketoconazol, nistatina, anfotericina B, voriconazol y caspofungin y mostró resistencia a fluconazol o itraconazol. Jeddy y cols. (2011) aislaron *C. albicans* y *C. krusei* y mostraron resistencia a fluconazol (21 y 50% respectivamente); Anwar y cols. (2012) reportaron que 12.8% de las especies aisladas mostraron resistencia también a este fármaco y más recientemente Mulu y cols. (2013) reportaron resultados muy similares al anterior con 12.2% de resistencia a fluconazol.

La mayoría de los estudios reportan mayor resistencia a fluconazol incluso algunos de ellos estiman su incidencia 6-36%, 15%, y 5-10% (Enwuru y cols. 2008, Jeddy y cols. 2011) a pesar de ser el antifúngico más utilizado en los pacientes con VIH/SIDA por sus altas concentraciones en plasma y saliva y por sus escasos efectos adversos (Pappas y cols. 2009); sin embargo casi todas las investigaciones sugieren el uso de nuevos fármacos que pudieran mostrar mayor eficacia como las equinocandinas.

Cuadro 3. Antifúngicos tópicos y sistémicos para candidosis bucal, orofaríngea y esofágica en pacientes con VIH/SIDA (Pappas y cols. 2002, Pappas y cols. 2009)

<i>Nombre</i>	<i>Presentación</i>	<i>Indicación</i>	<i>Actividad y Acción</i>	
Nistatina (Polieno)	Suspensión de 100, 000 UI/ml Tabletas 500,000 UI	Candidosis bucal y orofaríngea sin complicaciones. ¹ Candidosis orofaríngea y gastrointestinal. ¹	Fungistático y fungicida. Se une a esteroides de la membrana celular de especies sensibles de <i>Candida</i> , formando canales iónicos y alterando la permeabilidad de membrana. ¹	Sabor amargo, náuseas y vómitos y No efecto inmunológico clínico y n Desapego dosificación
Anfotericina B (Polieno)	Suspensión ¹ oral con 100 mg/ml Tabletas ¹ de 10 mg Polvo para administración intravenosa, 50 mg en viales	Se puede utilizar como tx. para candidosis bucal. ¹ Más recomendada para candidosis invasiva y sistémica. ¹	Fungistático y fungicida. Se une a esteroides de la membrana celular de especies sensibles de <i>Candida</i> , formando canales iónicos y alterando la permeabilidad de membrana. ¹	En suspensión bajas (0.05 mg/ml) más por vía sistémica. Efectos tóxicos Desapego frecuente (0.5-1%)
Miconazol* (azoles)	Gel al 2% Tableta muco-adhesiva 50mg ¹ (No disponible en México)	Candidosis bucal y orofaríngea. ¹	Antifúngica y bacteriostática (cocos y bacilos gram+) Inhibición de síntesis de ergosterol. ¹	Baja absorción Contraindicaciones
Fluconazol* (azoles)	Cápsulas o comprimidos ¹ de 50 mg, 100 mg, 150 mg y 200 mg	Candidosis bucal, orofaríngea (persistentes) y esofágica. ^{1,3}	Principalmente fungistático pero también puede ser fungicida. Potente inhibidor selectivo de enzimas fúngicas involucradas en la síntesis de ergosterol. ^{1,3}	Bien absorbido Niveles plasmáticos Concentración en alimentos Su absorción en alimentos Tienen menor actividad contra <i>krusei</i> . ³
Ketoconazol* (azoles)	Comprimidos de 200 mg	Candidosis orofaríngea y esofágica. ^{1,2}	Fungistático y fungicida. Potente inhibidor selectivo de enzimas fúngicas involucradas en la síntesis de ergosterol. ^{1,3}	Presenta dificultades de absorción principalmente por inhibición de proteasas. Efectos adversos potente inhibidor de la síntesis de ergosterol. Ya casi no se usa
Itraconazol* (azoles)	Comprimidos recubiertos de 50 y 200mg. Solución inyectable (IV) 200mg	Candidosis mucosa e invasiva como candidosis esofágica. Uso clínico principalmente para infecciones por <i>C. Krusei</i> y resistentes a fluconazol. ³	Fungistático y fungicida. Potente inhibidor selectivo de enzimas fúngicas involucradas en la síntesis de ergosterol. ^{1,3}	Su biodisponibilidad es baja y no se ve afectada cuando es administrada con alimentos. Antagonismo con otros antifúngicos inhibidores de la síntesis de ergosterol. Bebidas ácidas

				arándano y mejoran su
Posaconazol* (azoles)	Suspensión de 40 mg.	Demuestra actividad similar a voriconazol pero debido a evidencia clínica no se recomienda para candidosis que no sea orofaríngea. ^{1,3}	Fungistático y fungicida. Potente inhibidor selectivo de enzimas fúngicas involucradas en la síntesis de ergosterol. ^{1,3}	Su biodisponibilidad mejora con alimentos. Múltiples resistencias.
Caspofungina, Micafungina, Anidulafungina (equinocandinas)	Sólo disponible en presentaciones parenterales. ³	Indicado candidosis esofágica e invasiva y afecta principalmente <i>C. glabrata</i> y <i>C. krusei</i> y menor susceptibilidad para <i>C. dubliniensis</i> . ³	Fungistático en levaduras, fungicida hongos filamentosos. Alteran la pared celular al inhibir de forma no competitiva la síntesis de D-glucano.	Su metabolismo es moderado. Se recomienda moderada.
Flucitosina (Pirimidina fluorada sintética)	Cápsulas de 250 mg Solución intravenosa, 2,5 g en 250 ml	Posee contra la mayoría de las especies de <i>Candida</i> con excepción de <i>C. Krusei</i> . ³	Fungistático y fungicida. La flucitosina es un antimetabolito de piridina, que se incorpora en el ADN fúngico e impide la síntesis durante el proceso de replicación celular. ³	Su vida media es normal. Se recomienda normal. ³

*Todos los azoles inhiben en cierto grado el citocromo P450^{1,2}

1 (Vazquez 2010), 2 (Akpan y cols. 2002) 3 (Pappas y cols. 2009)

2. Planteamiento del problema

La candidosis bucal (CB) representa la infección fúngica más común en los pacientes con VIH/SIDA, siendo *Candida albicans* la especie más frecuentemente identificada. (Mane y cols. 2012, Junqueira y cols., 2011; Hasan y cols., 2009; Baradkar y Kumar 2009; Repentigny y cols., 2004; Tumbarello y cols. 1999) En pacientes con TARAA, la CB se encuentra en porcentajes que van del 3.9% (da Silva y cols. 2008) al 27.1% (Ortega y cols. 2009) y en estudios realizados en poblaciones sin TARAA, se reportan frecuencias de hasta 37.5% (Mulu y cols. en 2013) y 37.8% (Tamí-Maury y cols. en 2011).

Si bien el dimorfismo, la formación de biopelículas (Cassone y cols. 2012; Patel y cols., 2012) y la resistencia antifúngica (Hasan y cols. 2009; Blankenship y Mitchell 2006) se relacionan con la virulencia del microorganismo (dimorfismo, formación de biopelículas y la resistencia antifúngica), son escasos los estudios que estudian estos factores de virulencia con relación a las diferentes especies de *Candida* (Hasan y cols. 2009; Blankenship y Mitchell 2006, Cassone y cols. 2012; Patel y cols., 2012), el tipo de candidosis bucal, el estadio clínico y el tipo de terapia antirretroviral.

Por lo tanto, el presente estudio analiza los mecanismos de patogenicidad de las especies de *Candida* aisladas de la mucosa bucal de pacientes con VIH/SIDA, su capacidad de infección y su asociación con las características clínicas, a través de la toma de muestras de saliva de pacientes con VIH/SIDA, de la realización de cultivos, aislamientos, tipificación y evaluación de formación de biopelículas así como de la valoración de su capacidad de dimorfismo mediante características macro y microscópicas y de la resistencia antifúngica a fluconazol.

3. Justificación

En pacientes con VIH/SIDA la candidosis bucal puede progresar a candidosis orofaríngea, ocasionando disfagia, odinofagia y disgeusia (Repentigny 2004), o diseminarse a esófago e intestino y provocar síntomas como epigastralgia, náuseas y hematemesis (Nishimura y cols. 2013). La candidosis esofágica puede producir síntomas tan severos como estenosis, cuadros hemorrágicos y fístula esofagotraqueal disminuyendo la calidad de vida de los pacientes (Asayama y cols. 2013).

El tratamiento de la candidosis bucal en ocasiones puede ser complicado debido a la alta frecuencia de resistencia a los tratamientos. El presente estudio permitirá conocer las características de algunos de los principales mecanismos de patogenicidad de *Candida* y la resistencia a fluconazol de las especies más frecuentemente relacionadas con la infección o si por lo contrario estas variables son independientes entre sí. Asimismo, los resultados de esta investigación podrán favorecer la elección del tratamiento antimicótico, para evitar la progresión y diseminación de la candidosis bucal y de sus consecuentes signos y síntomas en los pacientes con VIH/SIDA.

4. Objetivos

4.1. Objetivo general

Determinar el perfil de virulencia especie-específico de las especies de *Candida* aisladas de la mucosa bucal de un grupo de pacientes con VIH/SIDA y su posible asociación con las características clínicas y la resistencia a fluconazol.

4.2. Objetivos específicos

- Determinar la frecuencia de colonización e infección de las diferentes especies de *Candida* en la mucosa bucal de pacientes con VIH/SIDA
- Determinar los perfiles fenotípicos y bioquímicos por especie de *Candida* en los aislamientos de obtenidos
- Establecer el número de unidades formadoras de colonias (UFC) de *Candida* sp
- Identificar la posible asociación entre el tipo de especie de *Candida* y las características clínicas (candidiasis eritematosa, pseudomembranosa, bucal u orofaríngea), de laboratorio (conteo de CD4+, carga viral) y el uso de TARAA
- Determinar la frecuencia de aislamientos resistentes a fluconazol

5. Material y método

5.1. Diseño del estudio.

Estudio transversal, observacional y analítico, que se realizó en la Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, en colaboración con la Clínica Especializada Condesa (CEC), el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), y la Facultad de Estomatología de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí (UASLP), entre febrero y julio de 2014.

Se incluyeron pacientes adultos diagnosticados con VIH/SIDA que asistieron a las consultas de Patología y Medicina bucal de CEC y el INCMNSZ, en el periodo comprendido de enero a mayo de 2014.

Criterios de inclusión:

- Pacientes adultos (> 18 años) con diagnóstico confirmado de VIH/SIDA, que aceptaron participar en el estudio y que firmaron el consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

- Pacientes sometidos a tratamiento antimicótico en los tres meses previos a su inclusión en el estudio

Criterios de eliminación:

- Pacientes cuyas muestras de saliva no fueron apropiadas para su análisis.

5.2. Procedimientos clínicos.

Previa lectura y firma del consentimiento informado (Anexo 3), se recopilaron datos demográficos (edad, sexo, estado civil, fecha de nacimiento, escolaridad, lugar de residencia y ocupación) que fueron registrados en una ficha de recolección de datos realizada para este fin (Anexo 4), se interrogó acerca

del consumo de tabaco, alcohol, y antecedentes personales patológicos, incluyendo la historia de lesiones bucales. Adicionalmente, los datos relativos a la fecha de diagnóstico de VIH, signos y síntomas iniciales de la enfermedad, nivel de CD4+ más bajo (nadir), carga viral y CD4+ más cercano al momento del estudio, así como el tipo, inicio y tiempo de consumo de TARAA, fueron obtenidos del expediente clínico.

A cada paciente se realizó la cuantificación de flujo salival (sialometría) (López-Jornet y cols. 1996) de acuerdo a la técnica descrita en el Anexo 5. El examen bucal se llevó a cabo por especialistas previamente calibrados (Kappa= 0.85), siguiendo un orden estricto (Road-Petersen 1969) (Anexo 6), usando guantes y abatelenguas desechable. Se registró el índice de higiene oral simplificado (Greene y Vermillion 1960) descrito en el Anexo 7. El diagnóstico de candidosis bucal se realizó con base en criterios clínicos pre-establecidos (Anexo 8) y fue confirmado mediante citología exfoliativa, realizando un raspado en la zona con abatelenguas de madera, el cual se extendió en portaobjetos previamente rotulado con los datos del paciente, se fijó con spray citológico y se transportó al Laboratorio de Histopatología de UAM Xochimilco para su análisis microscópico de acuerdo a criterios establecidos (Anexo 9). En el caso que el resultado fuera positivo se prescribió tratamiento antimicótico.

Adicionalmente, se realizó la toma de una muestra mediante un hisopado de la mucosa bucal utilizando un hisopo estéril girando 10 veces en contra de las manecillas del reloj en dorso de lengua, mucosa yugal y paladar duro y blando. La muestra se colocó en un medio de transporte (medio de Stuart) para mantener la viabilidad de *Candida*. Así mismo se tomó muestra de saliva mediante la realización de un enjuague por 30 segundos con 10 ml de solución salina el cual fue depositado en un vaso para recolección de muestras de boca ancha de polipropileno estéril. Para la recolección, el paciente debía encontrarse en ayuno de por lo menos 2 horas, sin haber realizado ningún procedimiento de higiene

bucal o colutorio y sin haber ingerido agua. La saliva recolectada se transportó junto con el hisopado al laboratorio en un recipiente hermético con una temperatura de entre 4-8°C con geles fríos.

5.3. Procedimientos de laboratorio.

Las pruebas de laboratorio se realizaron tanto en el Laboratorio de Histopatología de la UAM-Xochimilco como en el Laboratorio de Bioquímica, Microbiología y Patología de la Facultad de Estomatología de la UASLP.

Cultivos en Agar Dextrosa Sabouraud.

Diluciones.

Las muestras se agitaron vigorosamente durante 1 min y se tomó 1 ml de saliva que fue colocado en un tubo conteniendo 9 ml de solución de cloruro de sodio al 0.9%, a partir de esta primera dilución se realizaron diluciones seriadas hasta la dilución 10^{-5} .

De cada una de las diluciones se tomó una muestra de 50 μ L, la cual fue sembrada por extensión en placas de agar dextrosa sabouraud. Las placas fueron incubadas a $36\pm 1.5^{\circ}\text{C}$ durante 24 a 48 horas. Transcurrido el periodo de crecimiento se sacaron las placas de la incubadora y se realizó el registro de los resultados: se contabilizó el número de colonias desarrolladas en cada dilución, se registraron las características macroscópicas de las colonias tamaño (mm), color, textura y consistencia.

A partir del número de unidades formadoras de colonias (UFC) se realizó el cálculo de UFC/ml saliva utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{UFC} = \frac{\text{No. colonias} \times \text{Factor de dilución inverso}}{\text{Inóculo en ml (0.05 ml)}}$$

Cultivo hisopado:

Previo a la siembra, las muestras recolectadas con el hisopo se agitaron utilizando vórtex y posteriormente se retiraron del medio de Stuart y se sembraron con técnica en césped en medio de cultivo de agar dextrosa Sabouraud con cloranfenicol; se incubaron de 24 - 48 horas a 36 ± 1.5 °C; se registraron los cultivos positivos y las características macroscópicas de las colonias.

Aislamiento y tipificación

Las colonias obtenidas se resembraron en placas de CHROMAgar® *Candida*; en los casos que existieron dudas, se resembraron las colonias en este medio cromógeno que es selectivo y diferencial de *Candida*. Para descartarlos como negativos, las colonias fueron incubadas por un periodo adicional de siete días a una temperatura de 30 ± 1 °C; de aquellos cultivos positivos se tomó una asada picando diferentes puntos a lo largo de la placa, tomando una porción de cada colonia en diferentes puntos en una misma intención.

El inóculo anterior se sembró en placas de CHROMAgar® *Candida* por la técnica de cultivo puro y fueron incubados a 36 °C durante dos días. Con este cultivo cromogénico se realizó una identificación presuntiva de especies de *Candida*, de acuerdo a las características colorimétricas que indica el fabricante para cada especie; además, el uso de este medio permitió separar dos o más cepas juntas de diferente especie en una misma muestra clínica.

Los cultivos positivos a una o más especies se resembraron y purificaron en placas de CHROMAgar® (A. Rambach, BD Diagnostic Systems París, Francia.), hasta separar las colonias diferentes y purificarlas. Las colonias aisladas se resembraron en placas de agar glucosado de Sabouraud adicionado con cloranfenicol, incubándolas a 36 °C (± 1 C) por dos días. Posteriormente, se realizó una resiembra adicional en tubos inclinados de agar glucosado de Sabouraud adicionado con cloranfenicol.

La identificación de las especies *Candida no albicans* fue corroborada mediante el sistema API 20C Aux. Los aislamientos ya fenotipificados fueron almacenados en agua estéril a temperatura ambiente para su uso posterior.

Dimorfismo

Para evaluar la capacidad de transformación de levadura a hifa de las diferentes especies de *Candida*, se registraron las características macroscópicas de las colonias las cuales fueron confirmadas con las características microscópicas. Posteriormente se tomaron muestras de las colonias aisladas y fueron sembradas en Agar Harina de Maíz (AHM) mediante técnica de estría y cultivadas a 35 °C durante 7 días evaluando su crecimiento cada 24 horas y observando bajo microscopio óptico invertido la presencia o ausencia de hifas o pseudohifas, confirmando su presencia con frotis citológico mediante tinción de Gram.

Formación de biopelícula.

Para el desarrollo *in vitro* de formación de biopelículas, fueron requeridas condiciones específicas de crecimiento para cada aislamiento: los aislamientos y cepas ATCC de *Candida* fueron crecidos en agar dextrosa Sabouraud e incubados a 37 °C durante 24 a 48 horas. Posteriormente se tomó una colonia fresca que fue propagada en tubos cónicos de 15 mL. (Falcon®) que contenían 5 mL de caldo YDP (Yeast- Dextrose- Peptone), dejando incubar con agitación (70 RPM) constante de 10 a 16 h., pasado este tiempo cada tubo fue centrifugado (12,000 RPM) x 5 min), para continuar con una serie de lavados con PBS (Phosphated Buffered Saline) para retirar restos celulares, componentes y desechos del medio.

Con las células lavadas, se preparó una suspensión celular de cada aislamiento a una densidad celular de 1.5×10^6 células/mL, utilizando una cámara de NewBauer, estas células fueron re suspendidas en el medio RPMI-1640 suplementado con L-glutamina y amortiguado con MOPS.

De este inóculo, se tomaron 100 μ L y se sembraron en placas de microtitulación de poliestireno, las cuales fueron incubadas a 37°C, dejando en cada columna un pozo control el cual no contenía inóculo.

Transcurrido el tiempo de interés se procedió a remover el medio, para seguir con 3 lavados suaves con PBS, con la finalidad de remover células no adheridas. Una vez lavados los pocillos, a cada uno se le agregó una alícuota de 100 μ L de XTT/Menadiona, incluyendo los pozos control, las placas fueron incubadas en total oscuridad (se cubrieron con papel aluminio) durante 1 hora con 15 min, posteriormente los cambios colorimétricos fueron medidos con el sistema Multiskan® utilizando el software Ascent®, realizando las lecturas a una longitud de onda de 492 nm, estos cambios colorimétricos se consideraron proporcionales al número de células viables en biopelícula.

Para finalizar este ensayo se realizaron examinaciones microscópicas de las biopelículas formadas en las placas de microtitulación utilizando un microscopio óptico invertido. (Sánchez-Vargas y cols. 2013)

Resistencia antifúngica.

Para la determinación de la sensibilidad a fluconazol se utilizó el método de difusión en disco M44-A4 descrito por el Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI [antes NCCLS – National Committee for Clinical Laboratory standards]). Para este método se utilizaron discos de 25 μ g de fluconazol, medio de Agar Mueller Hinton suplementado con glucosa al 2% y con 0,5 μ g/ml de azul de metileno. Se preparó una suspensión de las levaduras y se ajustó su concentración a una turbidez de 0.5 en la escala de McFarland con agua destilada estéril.

Las placas con el Agar Mueller Hinton suplementado se inocularon con un hisopo estéril humedecido con esta suspensión de acuerdo con las recomendaciones del fabricante (BD Diagnostic Systems), y posteriormente se incubaron a 35°C durante 24–48h. La lectura se efectuó con un vernier Mitutoyo midiendo el halo de inhibición en milímetros.

Los resultados obtenidos de cada una de las pruebas realizadas fueron registrados en una ficha de recolección de resultados microbiológicos para el control de la información y su uso posterior. (Anexo 10.)

5.4. Variables

Dependientes: colonización, candidosis bucal y tipo de especie.

Independientes: edad, sexo, tabaco, alcohol, clínica de procedencia, conteo CD4+, carga viral, tipo y tiempo de TARA, dimorfismo, capacidad de formación de biopelícula, unidades formadoras de colonias (UFC) y resistencia a fluconazol.

5.5. Operacionalización de variables

Variables dependientes:

Infección por *Candida sp.*: Signos clínicos de candidosis bucal, confirmado con frotis citológico y cultivo de Agar Dextrosa Sabouraud positivo. (Niimi y cols. 2010, Gow y cols. 2013)

Colonización por *Candida sp.*: Sin signos clínicos de candidosis bucal, cultivo de Agar Dextrosa Sabouraud positivo. (Gümürü BT 2011, Gow y cols. 2013)

Negativos: Sin signos clínicos de candidosis bucal, cultivo de Agar Dextrosa Sabouraud negativo.

Especie de *Candida*: De acuerdo a los resultados obtenidos en el cultivo de CHROMAgar® las especies fueron clasificadas como: *C. albicans*: color verde claro en cultivo CHROMAgar®, no-*albicans*: color diferente a verde claro en CHROMAgar® y confirmación con prueba bioquímica (API 20C AUX).

Variables independientes:

Capacidad de formación de biopelícula: Estructura formada por red de hifas y pseudohifas junto con matriz tisular y restos celulares, valorando su crecimiento mediante asimilación de enzima por sistema multiskan, (Cassone y cols. 2012, Hasan y cols. 2009, Sánchez-Vargas y cols.2013) la cual se categorizó de la siguiente manera:

Cuadro 4. Clasificación de la formación de biofilm por <i>Candida spp.</i> basada en ensayos con XTT		
Formación de biofilm	DO 490nm	UFC Log₁₀ Cels/ml
No produce	≤ 0.10	< 0.1 x 10 ⁸
Ligeramente productora	0.11 - 0.40	0.1-0.75 x 10 ⁸
Moderadamente productora	0.41 - 0.74	0.76-2 x 10 ⁸
Altamente productora	≥ 0.75	>2 x 10 ⁸

Sánchez-Vargas y cols. 2013.

Dimorfismo: Formación de estructuras filamentosas o de tubos germinales a partir de levaduras de *Candida* en Agar Harina de Maiz (AHM) y confirmado por frotis citológico con tinción de Gram. Se dicotomizó en Sí: crecimiento en AHM y frotis positivo, No: crecimiento en AHM negativo. (Cassone y cols. 2012, Sanchez-Vargas y cols 2013).

Unidades formadoras de colonias: No. de colonias formadas por un microorganismo o microorganismos desarrolladas en un medio de cultivo específico en un tiempo de incubación determinado provenientes del microorganismo en estudio. Se categorizó como <400UFC y ≥400 UFC. (Epstein y cols. 1980)

Resistencia antifúngica: Crecimiento del patógeno inhibido por una concentración del agente antifúngico más alta que el rango observado para cepas silvestres. Valorado mediante halo de inhibición clasificándolo como sensibles (S/halo ≥19mm), sensibles dependiente de la dosis (SDD/halo 15-18mm) o resistentes (R/halo ≤14mm) que son los valores recomendados por el CLSI para el

fluconazol y que corresponden a la CMI por el método de dilución M27-A3 (S: $\leq 8\mu\text{g/ml}$, SDD: 16-32 $\mu\text{g/ml}$ y R: $\geq 64\mu\text{g/ml}$) (Pfaller y cols. 2006).

Consumo de tabaco: Los individuos incluidos en el estudio fueron clasificados como no fumadores, fumadores y ex fumadores. Los no fumadores fueron individuos que reportaron nunca haber fumado, o haber fumado menos de un cigarrillo al día durante toda su vida. Los fumadores fueron definidos como individuos que habían fumado al menos un cigarrillo al día durante el año previo a su inclusión en el estudio. Los ex-fumadores fueron aquellos individuos que habían dejado de fumar al menos 12 meses antes de su inclusión al estudio. Se interrogó a los fumadores y ex fumadores sobre la edad de inicio y de término del hábito tabáquico, y la cantidad de cigarros consumidos por día. La cantidad acumulativa de tabaco se calculó en paquetes-año (no. cigarros por día x 365.25 / 20 x años de consumo). La variable *Consumo acumulativo de tabaco* fue categorizada en tres categorías: 0, <25, y >25 paquetes-año (Encuesta Nacional para las Adicciones 2011).

Consumo de alcohol: El consumo de bebidas alcohólicas fue calculado en unidades de bebida (UB), de acuerdo al tipo de bebida que sea consumida, y tomando en cuenta el contenido de etanol de cada una de ellas (SSA, ENA 2002):

Vino	125 ml.	Tequila	30 ml.
Ron	30 ml.	Mezcal	30 ml.
Licor	30 ml.	Cerveza	330 ml.
Brandy	30 ml.	Pulque	330 ml.

Los individuos incluidos en el estudio fueron clasificados como no bebedores, bebedores y ex bebedores. Los sujetos que habían bebido menos de una UB por semana, o que reportaron no haber bebido nunca fueron considerados no bebedores. Los bebedores fueron definidos como aquellos individuos que habían bebido al menos una UB por semana durante el año previo al estudio. Los ex-

bebedores incluyeron a los individuos que habían dejado de consumir bebidas alcohólicas al menos un año antes de su inclusión en el estudio. Los bebedores y ex-bebedores fueron interrogados acerca de la edad en la que iniciaron y dejaron de consumir alcohol. Se calculó la cantidad acumulativa de UB en UB-año (Unidad de bebida semanal x 52 x años de consumo). La variable *Consumo acumulativo de alcohol* fue dividida en tres categorías: 0, <16, y >16 UD-año (Encuesta Nacional para las Adicciones 2003, 2011).

5.6 Análisis estadístico

Se efectuó la descripción de las variables continuas se calcularon medidas de tendencia central (medias y medianas) y de dispersión (desviación estándar e intervalos intercuartilares); para las variables categóricas se obtuvieron porcentajes. El análisis bivariado entre la presencia de *Candida* y las variables categóricas se realizó a través de pruebas de X^2 y exacta de Fisher, en los casos que así se requirió. Se efectuó prueba de Wilcoxon para establecer asociación entre las variables independientes cuantitativas y la presencia de infección o colonización y la resistencia antifúngica. Se utilizó el paquete JMP V.9 para el análisis estadístico.

6. Resultados

Se incluyeron 120 pacientes con VIH/SIDA, 47 (39%) provenientes del INCMNSZ y 73 (61%) de la CEC; 109 (90%) correspondieron al sexo masculino, con una mediana de edad de 40 (Q₁-Q₃: 34-47) años y 59 (52%), se encontraban en la categoría de SIDA. La mediana de tiempo de diagnóstico de VIH fue de 1,749 (Q₁-Q₃: 355-3614) días; una gran proporción de los pacientes (95/81%) usaban TARAA, con una mediana de uso de 1,057 (Q₁-Q₃: 362-1982) días. La mayor parte de los individuos (76%) presentaron conteos de linfocitos CD4+ mayores de 200 cel/mm³, y carga viral indetectable (80; 72%).

Al comparar a los pacientes por clínica de procedencia se observó que los pacientes de la CEC tenían menor tiempo de diagnóstico de VIH (624; Q₁-Q₃: 77-2250 días), con menor proporción de pacientes usando TARAA (50/70%), menor tiempo con TARAA (Md: 543; Q₁-Q₃: 160-1,127 días), menos pacientes con carga viral indetectable (36/55%) y con conteos de linfocitos CD4+ mayores de 200 cél/mm³ (40/62%), en comparación con los pacientes del INCMNSZ: 45/98% usando TARAA, con una mediana de 1,830 (Q₁-Q₃: 1,062-2,142) de días de uso de TARAA, y una mediana de tiempo de diagnóstico de VIH de 3,194 (Q₁-Q₃: 2,131-5,102) días, mayor proporción con carga viral indetectable (44/96%) y más pacientes con conteos de CD4+ mayores a 200 cél/mm³ (44/96%).

Catorce (10.8%) de los 120 pacientes presentaron características clínicas compatibles con candidosis bucal (CB), siendo la variedad eritematosa la más frecuente (12/9.2%). Nueve de los 14 pacientes con CB resultaron positivos a *Candida* sp. en el cultivo de agar dextrosa Sabouraud (ADS), por lo que para fines del análisis, sólo se consideraron éstos como casos de infección. De las muestras de saliva recolectadas en los 106 pacientes sin signos clínicos de CB, 38 (31.6%) resultaron positivas en el

cultivo de ADS, considerándose como colonización. El grupo de pacientes con infección (9) o colonización (38) se agruparon como casos “positivos” (47).

Como se observa en el Cuadro 5, no se encontraron diferencias entre las características clínicas típicamente asociadas a la presencia de candidosis bucal (uso de antibióticos de amplio espectro, uso de prótesis, consumo de tabaco y alcohol, niveles de glucemia o IHOS) y la presencia o ausencia de *Candida* sp. Solo un paciente presentó hiposalivación, por lo que no se realizó el análisis estadístico con esta variable. Con relación al consumo de antibióticos de amplio espectro, se encontró una diferencia significativa al comparar el grupo de infectados (9) contra el de colonizados (38) ($p=0.025$).

Se observó mayor historia de uso de antibióticos de amplio espectro en los pacientes de la CEC (15% [7/48] en los negativos a CSp y 28% [7/25] en los positivos a CSp) en contraste con el 4 al 4.5% encontrado en pacientes del INCMNSZ.

No se encontró asociación significativa al comparar a los pacientes negativos y positivos con las características asociadas al VIH (uso y tiempo de TARAA, CD4+ nadir, nivel de CD4+ y carga viral y tiempo de diagnóstico de VIH). (Cuadro 6) Así mismo, no se encontró diferencia significativa con estas variables al compararlas con los pacientes colonizados o infectados.

La especie de *Candida* se determinó en 43 de los 47 aislamientos, debido a que cuatro de ellos fueron negativos al resembrarlos en el medio cromogénico, por lo que fueron considerados como pacientes infectados con otra especie fúngica (no *Candida*). Como se refiere en el Cuadro 7, la especie más frecuentemente identificada fue *C. albicans*, las especies *C. no albicans* se presentaron únicamente en colonización y se observaron 2 casos de co-infección entre *C. albicans* y *C. glabrata* (uno en los colonizados y el otro en los infectados). En los 73 pacientes de la CEC únicamente se identificó *C.*

albicans, las especies *Candida no albicans* sólo se presentaron en los aislamientos de los 43 pacientes del INCMNSZ.

Como se describe en el Cuadro 8, el grupo de pacientes con infección por *Candida* sp, presentó un mayor conteo de UFC comparado con el grupo de colonizados ($p < 0.001$), en todos los casos de infección se obtuvo un conteo mayor o igual a las 400 UFC. Adicionalmente, se observó una mayor producción de UFC en la especie *C. albicans* (Md: 600 Q_1 - Q_3 : 200 – 6,000 UFC) en contraste con las especies *C. no albicans* (200 (Q_1 - Q_3 : 200 – 400 UFC), aunque la diferencia no fue significativa ($p = 0.073$) (Cuadro 9).

No se observó asociación entre los factores de virulencia estudiados (capacidad de dimorfismo y formación de biofilm) y el estatus a colonización o infección por tipo de especie (Cuadros 8 y 9). Se encontró una frecuencia de resistencia a fluconazol en el 39.5%, una mayor proporción en los pacientes colonizados (41.2%) que en los infectados (33.3%), siendo la diferencia no significativa ($p=1.000$). (Cuadro 8)

Cuadro 5. Características clínicas de 120 pacientes con VIH/SIDA de acuerdo con el estatus a *Candida sp.*

	Negativos	Positivos	<i>p</i>	Total
	(n=73)	(n=47)		(n=120)
	n (%)	n (%)		n (%)
Uso antibióticos amplio espectro	n=71			n=118
Sí	8 (11.3)	8 (17.0)	0.371 ^a	16 (14.0)
No	63 (88.7)	39 (83.0)		102 (86.0)
Uso de prótesis	n=71			n=118
Sí	2 (3.0)	3 (6.0)	0.346 ^a	5 (4.0)
No	69 (97.0)	44 (94.0)		113 (96.0)
Consumo de tabaco				
Sí	16 (22.0)	14 (30.0)	0.331 ^a	30 (25.0)
No	57 (78.0)	33 (70.0)		90 (75.0)
Consumo de alcohol				
Sí	17 (23.0)	8 (17.0)	0.409 ^a	25 (21.0)
No	56 (77.0)	39 (83.0)		95 (79.0)
Mediana de glucosa en sangre (Q₁-Q₃) (mg/dL)	93 (88-102)	91 (85-98)	0.173 ^b	93 (88-99)
Distribución	n=61	n=44		n=105
≤100 mg/dL	44 (72.0)	37 (84.0)	0.149 ^a	81 (77.0)
>100 mg/dL	17 (28.0)	7 (16.0)		24 (23.0)
Mediana de sialometría (Q₁-Q₃) (cm/5min)	5.5 (4.3-6.5)	5.5 (4.5-6.5)	0.689 ^b	5.5 (4.4-6.5)
Distribución	n=71			n=118
>1.5 (normal)	71 (100)	46 (98.0)	NA	117 (99.0)
<1.5 (hiposalivación)	0 (0)	1 (2.0)		1 (1.0)
Índice de higiene bucal	n=70	n=39		n=109
Buena (0-1.2)	54 (77.1)	30 (77.0)	0.979 ^b	84 (77.1)
Regular (1.3-3)	16 (22.9)	9 (23.0)		25 (22.9)

^aChi cuadrada de Pearson; ^bPrueba de Wilcoxon; ^cPrueba exacta de Fisher.
NA=No aplica.

Cuadro 6. Valores de laboratorio, uso y tiempo de TARAA y tiempo de diagnóstico de VIH en 120 pacientes con VIH/SIDA de acuerdo al estatus a *Candida sp.*

	Negativos (n=73)	Positivos (n=47)	<i>p</i>	Total (n=120)
	n (%)	n (%)		n (%)
Uso de TARAA	n=70			n=117
Sí	59 (84.0)	36 (77.0)	0.332 ^a	95 (81.0)
No	11 (16.0)	11 (23.0)		22 (19.0)
Mediana uso de TARAA (Q₁-Q₃) días	1034 (362-1949)	1057 (348-2084)	0.751 ^b	1057 (362-1982)
Distribución	n=67	n=35		n=94
< 30 días (1 mes)	2 (3.0)	2 (6.0)		4 (4.0)
30-365 días (1 a 12 meses)	11 (19.0)	7 (20.0)		18 (19.0)
>365 días (12 meses)	46 (78.0)	26 (74.0)		72 (77.0)
Mediana de CD4 nadir (Q₁-Q₃) cél/mm³	187 (107-373)	212 (162-344)	0.823 ^b	198 (119-348)
Distribución	n=66	n=43		n=109
≤ de 200 células/mm ³	34 (51.5)	20 (46.5)	0.609 ^a	54 (49.5)
> de 200 células/mm ³	32 (48.5)	23 (53.5)		55 (50.5)
Mediana de CD4 (Q₁-Q₃) cél/mm³	437 (205-614)	382 (193-598)	0.452 ^b	406 (198-614)
Distribución	n=67	n=44		n=111
≤ de 200 células/mm ³	16 (24.0)	11 (25.0)	0.893 ^a	27 (24.0)
> de 200 células/mm ³	51 (76.0)	33 (75.0)		84 (76.0)
Mediana de CV (Q₁-Q₃) copias/ml	39 (39-6588)	39 (39-4290)	0.645 ^b	30 (39-6065)
Distribución	n=68	n=43		n=111
CV indetectable	49 (72.0)	31 (72.0)		80 (72.0)
< de 10,000 copias RNA/ml	5 (7.0)	3 (7.0)	0.680 ^c	8 (7.0)
≥ de 10,000 copias RNA/ml	14 (21.0)	9 (21.0)		23 (21.0)
Mediana tiempo dx. VIH (Q₁-Q₃) días	1420 (457-3764)	1891 (120-3504)	0.751 ^b	1749 (355-3614)
	n=68	n=46		n=114

TARAA=Terapia antirretroviral altamente activa; CV= carga viral. ^aChi cuadrada de Pearson; ^bPrueba de Wilcoxon; ^cPrueba exacta de Fisher.

Cuadro 7. Especies de *Candida* aisladas en mucosa bucal de 47 pacientes con VIH/SIDA de acuerdo a estatus de *Candida sp.*

	Colonizados	Infectados	Total
	(n=38)	(n=9)	(n=47)
	n (%)	n (%)	n (%)
Especie de <i>Candida</i>			n=43*
<i>C. albicans</i>	27 (71.1)	8 (88.9)	35 (82.0)
No albicans			
<i>C. glabrata</i>	3 (7.9)	0 (0)	3 (8.0)
<i>C. dubliniensis</i>	1 (2.6)	0 (0)	1 (2.0)
<i>C. parapsilopsis</i>	1 (2.6)	0 (0)	1 (2.0)
<i>C. intermedia</i>	1 (2.6)	0 (0)	1 (2.0)
Dos especies (<i>C. albicans/C.glabrata</i>)	1 (2.6)	1 (11.1)	2 (4.0)

*En 4 pacientes el cultivo fue negativo, lo cual sugiere que pudieron corresponder a otra especie fúngica (No *Candida*)

Cuadro 8. Factores de virulencia y su asociación con colonización e infección de *Candida* de 43 pacientes con VIH/SIDA.

	Colonizados (n=34)	Infectados (n=9)	<i>p</i>	Total (n=43)
	n (%)	n (%)		n (%)
Dimorfismo				
Sí (+filamentación AHM)	9 (26.5)	2 (22.2)	1.000 ^a	11 (25.6)
No	25 (73.5)	7 (77.8)		32 (74.4)
Resistencia fluconazol				
Resistentes (sin halo o <14 mm)	14 (41.2)	3 (33.3)	1.000 ^a	17 (39.5)
Sensibles (≥ 19 mm)	20 (58.8)	6 (66.7)		26 (60.5)
Mediana de biofilm (Q₁-Q₃) no. de cél. viables	2.2 (1.9-2.6)	2.3 (2-2.5)	0.928 ^b	2.2 (1.9-2.6)
Distribución				
Alta capacidad (>0.75)	34 (100)	9 (100)		43 (100)
Mediana de UFC (Q₁-Q₃) No. colonias/ml	200 (200-650)	7400 (3700-13300)	0.0001 ^b	300 (200-4250)
Distribución				
< 400 UFC	21 (61.8)	0 (0)	0.001 ^a	21 (49.0)
≥ 400 UFC	13 (38.2)	9 (100)		22 (51.0)

UFC=Unidades formadoras de colonias; AHM= Agar harina de maíz. ^aPrueba exacta de Fischer; ^b Prueba de Wilcoxon.

Cuadro 9. Factores de virulencia y su asociación con el tipo de especie de *Candida* de 45 especies aisladas en 43 pacientes con VIH/SIDA.

	<i>Albicans</i> (n=37)	<i>No albicans</i> (n=8)	<i>p</i>	Total (n=45)
	n (%)	n (%)		n (%)
Dimorfismo				
Sí (+filamentación AHM)	8 (21.6)	3 (37.5)	0.382 ^a	11 (24.4)
No	29 (78.4)	5 (62.5)		34 (75.6)
Resistencia fluconazol				
Resistentes (sin halo o <14 mm)	15 (41.0)	4 (50.0)	0.704 ^a	19 (42.2)
Sensibles (≥ 19 mm)	22 (59.0)	4 (50.0)		26 (57.8)
Mediana de Biofilm (Q₁-Q₃) No. de cél.viables	2.4 (2-2.6)	2 (1.8-2.1)	0.065 ^b	2.2 (1.9-2.6)
Distribución				
Alta capacidad (>0.75)	37 (100)	8 (100)		45 (100)
Mediana de UFC (Q₁-Q₃) No. colonias/ml	600 (200-6000)	200 (200-400)	0.073 ^b	400 (200-5000)
Distribución				
< 400 UFC	16 (43.0)	5 (83.0)	0.094 ^a	21 (49.0)
≥ 400 UFC	21 (57.0)	1 (17.0)		22 (51.0)

UFC=Unidades formadoras de colonias; AHM= agar harina de maíz,.^aPrueba exacta de Fischer; ^bPrueba de Wilcoxon.

*Debido a que el conteo de UFC se realizó del cultivo de ADS previo a la identificación de la especie, de los 2 cultivos que presentaron co-infección el conteo aparece junto por lo que disminuyen dos especies en este rubro.

7. Discusión.

En la presente investigación se observó una baja prevalencia de candidosis bucal (10.8%), sin embargo se obtuvo una alta frecuencia de cultivos positivos a *Candida* sp. con 47 (39.2%) casos. La especie más frecuente fue *C. albicans* tanto en colonización como en infección, seguida de *C. glabrata*. Adicionalmente, se observó una asociación significativa entre el conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) y colonización o infección ($p < 0.0001$) donde todos los casos de infección presentaron UFC mayores de ≥ 400 UFC; así mismo, se obtuvo un alto porcentaje de resistencia a fluconazol (39.5%)

Desde 1983, cuando se reportaron los primeros casos de VIH/SIDA en nuestro país, (Valdespino y cols.) se observó que los pacientes infectados con VIH/SIDA eran susceptibles a desarrollar infecciones oportunistas, siendo la candidosis la principal manifestación bucal de la infección por VIH, (Patton y cols. 2013, Kwamin y cols. 2013; Li y cols. 2013; Back-Brito y cols. 2009). La CB se ha considerado como un marcador clínico de progresión de la enfermedad (Leao y cols. 2009, Chidzonga y cols. 2008. Ranganathan y cols. 2006) y de falla al tratamiento antirretroviral (López-Verdín y cols. 2014, Ramírez-Amador y cols. 2007, Gaitán-Cepeda y cols. 2005)

En concordancia con los datos epidemiológicos del VIH/SIDA en México (CENSIDA Reporte junio 2014) y el mundo (UNAIDS Reporte Global 2014), los individuos con VIH/SIDA incluidos en este estudio eran principalmente pacientes del sexo masculino (90%). En México, hasta junio de 2014, se tenía registrado que el 75.3% de los 50,497 casos con VIH y el 83% de los 65,365 reportados con SIDA eran hombres, observando una mayor proporción de los casos en adultos jóvenes (25-49 años de edad), (CENSIDA Reporte junio 2014) lo cual es semejante a la observada en la población de (mediana de edad 40 [Q₁-Q₃: 34-47] años).

La mayoría de los pacientes incluidos (81%) utilizaban TARAA, con una mediana de tiempo de 1,057 días. Este hallazgo concuerda con los datos actuales de CENSIDA, que informa que en México, el 52.2% de las personas con VIH/SIDA reciben tratamiento antirretroviral (CENSIDA Reporte junio 2014). Los sujetos incluidos en el estudio provienen de dos centros de referencia localizados en la Ciudad de México, el 61% de ellos de la Clínica Especializada Condesa (CEC) y el 39% del Instituto de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ).

En los pacientes provenientes del INCMNSZ, se observó una mayor proporción de uso de TARAA (98%), en consecuencia, una frecuencia mayor de pacientes presentaron conteos de CD4+ superiores a las 200 células/mm³ (96%) y una mayor cantidad de sujetos tenían carga viral indetectable (96%). En comparación, una menor proporción de los sujetos de la CEC estaban con TARAA (70%), con menor cantidad de casos con CD4 >200 (61%) y menor cantidad de sujetos con CV indetectable (55%).

En el presente estudio se obtuvo una baja prevalencia de CB (10.8%), mayor al 3.9% publicado en pacientes adultos en Brasil (da Silva y cols. 2008) y similar al 9.1% encontrado en Sudáfrica (Owotade y cols. 2013), cabe mencionar que el 66% (da Silva y cols. en 2008) y el 94% (Owotade y cols. 2013) de los pacientes se encontraban con TARAA y al igual que en el presente trabajo, la mayoría de los individuos incluidos presentaron niveles mayores a las 200 células CD4+ y carga viral indetectable, lo cual indica restauración del sistema inmune y supresión viral debido al uso de la terapia antirretroviral (Pinzone y cols. 2012), disminuyendo la frecuencia de lesiones bucales asociadas a la inmunosupresión ocasionada por la infección del VIH, incluyendo la candidosis bucal. (Patton y cols. 2013, Prakash y cols. 2012, Anwar y cols. 2012, Tamí-Maury 2011) Sin embargo, en trabajos recientes, en los que los sujetos estudiados estaban iniciando TARAA (Tamí-Maury 2011), se reportó una prevalencia de 37.8% (Tamí-Maury 2011) de CB. En poblaciones vírgenes a TARAA el porcentaje de candidosis bucal se incrementa, hasta el 76% en población de adultos (Berberi y cols. 2015).

Con relación a la frecuencia de colonización por *Candida* sp, el 31.7% encontrado en el presente estudio es menor al 59.4% de un estudio similar (Owotade y cols. 2013), en ambos trabajos se observa una baja prevalencia de CB y una mayor cantidad de colonización. Se han propuesto algunas teorías para estas diferencias, como la inhibición de proteínas como la aspartil proteasa (SAP's) por el uso de TARRA, que disminuye los factores de virulencia del microorganismo sin ocasionar un daño directo sobre éste, por lo que permanece colonizando al hospedero (De Bernardis y cols. 2004, Gaitán-Cepeda y cols. 2014). También se ha sugerido que factores locales como la presencia de lesiones cariosas podría incrementar la probabilidad de colonización por parte de *Candida* sp, (Cerqueira y cols. 2010, Gaitán-Cepeda 2014) ya que se ha observado que necesita de otros microorganismos como *Streptococcus mutans* y *Lactobacillus* para formar biopelículas, facilitando dicha colonización (Srivastava y cols. 2012).

Los pacientes colonizados por *Candida* sp. pueden potencialmente desarrollar candidosis bucal, ya que cualquier disminución en el sistema inmunológico facilitaría la infección por el hongo. A este respecto, el uso de profilaxis antimicótica en pacientes susceptibles es controversial, ya que se ha reportado el surgimiento de especies resistentes a estos fármacos y el desarrollo de candidemia durante el tratamiento (Alexander y cols. 2005, Pfaller y cols. 2012).

Debido a la alta proporción de pacientes con TARRA tanto en los sujetos negativos como en los colonizados o infectados, no fue posible identificar posibles asociaciones con la infección o colonización por *Candida* sp. Resultados similares han sido publicados en México por Sánchez-Vargas y cols. (Sánchez-Vargas y cols. 2005) y en Brasil en 2008 por da Silva y cols. (da Silva y cols. 2008).

Se ha sugerido que la frecuencia de CB o colonización está relacionada, particularmente en pacientes con TARAA, con otros factores no asociados directamente con la infección por VIH, como son la especie de *Candida* y los factores de virulencia de la misma. (Sánchez-Vargas y cols. 2005) Sin embargo, otras investigaciones (Anwar y cols. 2012, Prakash y cols. 2012) han encontrado asociación significativa con algunas de estas variables (conteo bajo de CD4+), y la presencia de CB (Anwar y cols. 2012, Prakash y cols. 2012).

Candida albicans es la principal especie identificada en la mayoría de los aislamientos realizados en pacientes con VIH/SIDA (Kwamin y cols. 2013, Owotade y cols. 2013, Mulu y cols. 2013, Patel y cols. 2012, Prakash y cols. 2012, Anwar y cols. 2012), resultados similares se observaron en este estudio, donde la especie más frecuente fue *C. albicans* tanto en colonización como en infección, seguida de *C. glabrata* que se presentó únicamente en colonización. En pacientes con VIH/SIDA se han mencionado especies *Candida no albicans* tanto re-emergentes como emergentes en el desarrollo de CB principalmente *C. glabrata* y *C. dubliniensis* (Patel y cols 2012). Algunos autores (Patel y cols 2012, Kirkpatrick y cols. 1998) sugieren que este cambio epidemiológico puede deberse a una mayor identificación de la especie en el caso de *C. dubliniensis*, que fenotípicamente puede ser confundida con *C. albicans* ocasionando que sea subdiagnosticada o al desarrollo de resistencia a fluconazol en el caso de *C. glabrata*, debido a exposiciones previas a este fármaco favoreciendo el crecimiento de esta especie (Patel y cols 2012, Borst y cols. 2005).

En el presente estudio no se encontró asociación entre los factores de virulencia (dimorfismo y capacidad de formación de biopelícula) y la colonización, infección o el tipo de especie; sin embargo, es importante resaltar que las especies de *Candida no albicans* se presentaron únicamente en colonización. Se ha descrito que el tipo de especie de *Candida* puede estar asociado con la capacidad de colonización o infección debido a los diferentes factores de virulencia de cada una, *C. albicans* por

su alta capacidad de dimorfismo y producción de enzimas hidrolíticas, se ha relacionado con infección por su capacidad de invasión a los tejidos (Jacobsen y cols. 2012, Cassone y cols. 2012). Por el contrario, las especies *Candida no albicans* se han reportado más en colonización, debido a que cuentan con producción de adhesinas lo que facilita la unión de estas levaduras al epitelio, sin embargo, presentan una capacidad limitada o nula de dimorfismo disminuyendo su potencial de penetración e invasión (Khan y cols. 2012, Cassone y cols. 2012 y Hasan y cols. 2009). Asimismo, se ha observado una mayor capacidad de formación de biopelícula de la especie *C. albicans* debido a que la transformación de levadura a hifa es necesaria para la maduración del biofilm confiriéndole una mayor estabilidad (Blankenship y Mitchell 2006).

Algunos autores (Jacobsen y cols. 2012) han llegado a proponer como blanco terapéutico la inhibición de la capacidad de dimorfismo para evitar el desarrollo de CB pero únicamente en las etapas iniciales de la infección, ya que en estadios avanzados de la enfermedad como en la candidiasis diseminada, se ha observado que la forma de levadura es la que predomina y facilita dicha diseminación (Jacobsen y cols. 2012).

El conteo de unidades formadoras de colonias ha sido utilizado para establecer un punto de corte entre los pacientes colonizados y los infectados. Epstein y cols. (Epstein y cols. 1980) determinaron que los conteos mayores o iguales a 400 UFC son indicadores de infección, y los conteos menores a estas cifras son compatibles con colonización. Este punto de corte ha sido aplicado en otros trabajos (Singh y cols. 2014, Kumar y cols. 2005, Moreira y cols. 2001) donde al igual que en el presente estudio, todos los pacientes infectados presentaron un conteo \geq a 400 UFC encontrando diferencia significativa ($p=0.001$) al compararlo con los pacientes colonizados. En relación al tipo de especie y número de UFC se presentó un mayor conteo en la especie *C. albicans* en comparación con las *Candida no albicans* aunque no se observó una diferencia significativa al comparar los dos grupos.

En pacientes infectados por VIH/SIDA se ha informado una frecuencia de resistencia a fluconazol, que varía de un 10.8% (Sánchez-Vargas y cols. 2005) – 12.8% (Anwar y cols. 2012) hasta un 23.8% (Jeddy y cols. 2011) y 32% (Mulu y cols. 2013). En este estudio se obtuvo una alta prevalencia de resistencia a fluconazol de 39.5% observando un 41% en colonización y un 33% en los casos de infección, esto último podría atribuirse a que todas las especies de *Candida no albicans* se presentaron únicamente en colonización aumentando el porcentaje de resistencia en este grupo, ya que se sabe que estas especies son menos sensibles a los azoles principalmente *C. glabrata* que fue la especie *Candida no albicans* más frecuente en este estudio.

No se encontró asociación entre resistencia a fluconazol y colonización y CB o tipo de especie de *Candida*. Cabe mencionar que al comparar la frecuencia de resistencia a fluconazol por centro de referencia se observó una mayor resistencia en los pacientes provenientes del INCMNSZ (55.5%) en comparación con los de la CEC (32%), lo cual podría deberse a que los pacientes del INCMNSZ, tienen mayor tiempo de diagnóstico de VIH y han recibido atención médica en este centro durante periodos largos, por lo que existe la probabilidad de haber recibido antimicóticos. Sin embargo la exposición a antifúngicos fue una variable que no se consideró en este estudio, por lo cual únicamente se puede inferir sobre el resultado de esta diferencia.

La resistencia a fluconazol tiene implicaciones muy importantes para el paciente que es portador de una cepa resistente, se sabe que las especies de *Candida* resistentes a antimicóticos presentan cambios en la composición y organización de la pared celular ocasionando una alteración en la detección del hongo por parte de las células del sistema inmunológico, (Gow y cols. 2011, Lewis y cols. 2012) facilitando la diseminación de *Candida sp.* a otros tejidos; incluso se ha observado que en aquellos pacientes que han estado con tratamiento profiláctico con antimicóticos presentaron cepas resistentes principalmente a azoles con el posterior desarrollo de Candidemia. Además, en estos pacientes existe una mayor

posibilidad de falla terapéutica en caso de someterse posteriormente a un tratamiento antimicótico con compuestos azólicos (Alexander y cols. 2005, Pfaller y cols. 2012).

A pesar de que el fluconazol presenta una excelente biodisponibilidad (>90% en plasma) haciéndolo el principal antimicótico de elección en pacientes inmunocomprometidos con riesgo a desarrollar candidosis o con candidosis invasiva o sistémica ya existente, se debe considerar que al igual que todos los azoles presenta cierto grado de hepatotoxicidad, esto aunado a la alta proporción de resistencia que se ha reportado con el uso de este antimicótico (Akpan y cols. 2002). Algunos autores sugieren que esta resistencia podría evitarse si el fluconazol se utilizara adecuadamente, de acuerdo a las recomendaciones de las guías existentes en pacientes con VIH o con otro tipo de inmunosupresión, las cuales sugieren no utilizar el fármaco cuando existió uso previo de fluconazol recientemente y aunque se recomienda en ciertos casos como tratamiento profiláctico, éste debe de suspenderse cuando se haya iniciado la terapia antirretroviral y el nivel de CD4+ haya aumentado para evitar el uso crónico del mismo. Asimismo, cuando existen especies de *Candida no albicans* como *C. glabrata* y *C. krusei* se recomienda el uso de otros antifúngicos como las equinocandinas, a excepción de *C. parapsilopsis* donde el fluconazol se sugiere como terapia inicial (Pappas y cols. 2009, Brooks y cols. 2009).

8. Conclusión.

- A pesar de la disminución observada en la prevalencia de lesiones bucales asociadas al VIH en la era post-TARAA, la candidosis bucal continúa siendo la infección más frecuente en los pacientes con VIH/SIDA.
- En pacientes controlados (con TARAA y conteos ≥ 200 cél/mm³ y CV indetectable), factores no asociados con la infección por VIH podrían estar relacionados con el desarrollo de candidosis bucal como el consumo de antibióticos de amplio espectro, el uso previo de antimicóticos u otros factores de virulencia que no fueron considerados en este estudio.
- La alta frecuencia de resistencia a fluconazol observada hace necesario considerar otras opciones terapéuticas.

9. Limitaciones del estudio

- Tamaño de muestra: ya que existió dificultad para el análisis con algunas variables.
- Las propias de un estudio transversal: dificultad en la obtención de la información y en la validez de la misma. (Ej. Uso previo de antimicóticos)
- No haber utilizado un método más sensible para evaluar la resistencia a fluconazol como un método por dilución.

10. Perspectivas

- Realizar un estudio únicamente sobre resistencia antifúngica ya que los factores asociados son diversos y complejos.
- Evaluar la resistencia a otros antimicóticos.
- Sobreexpresión de genes y las mutaciones en la enzima lanosterol desmetilasa ya que es el blanco de los antifúngicos azoles.
- Comenzar a caracterizar la prevalencia de los mecanismos de resistencia de los azoles para brindar mejores opciones terapéuticas.

11. Referencias

- Abbas W, Herbein G. T-Cell Signaling in HIV-1 Infection. *Open Virol J* 2013;7:57-71.
- Abraham CM. Advances and emerging techniques in the identification, Diagnosis and treatment of oral candidiasis. *Open Pathol J.* 2011;5: 8-12.
- Aguirre JM, Echebarría MA, Eguía VA. Acquired immunodeficiency syndrome: manifestations in the oral cavity. *Med Oral Pathol Oral Cir Bucal* 2004;9Suppl:148-157.
- Aguirre JM. Candidiasis orales. *Rev Iberoam Micol* 2002;19:17-21.
- Ahmad S, Khan Z. Invasive candidiasis: A review of nonculture-based laboratory diagnostic methods. *Indian J Med Microbiol* 2012;30:264-269.
- Akpan A, Morgan R. Oral candidiasis *Postgrad Med J* 2002;78:455-459.
- Alexander BD, Schell WA, Miller JL. *Candida glabrata* fungemia in transplant patients receiving voriconazole after fluconazole. *Transplantation* 2005;80:868-871.
- Anwar K, Malik A, Subhan K. Profile of candidiasis of HIV infected patients. *Iran J Microbiol* 2012;4:204-209.
- Aquaro S, Svicher V, Schols D, Pollicita M, Antinori A, Balzarini J, Perno CF. Mechanisms underlying activity of antiretroviral drugs in HIV-1-infected macrophages: new therapeutic strategies. *J Leukoc Biol* 2006;80:1103-1110.
- Asayama N, Nagata N, Shimbo T, Nishimura S, Igari T, y Akiyama J. Relationship between clinical factors and severity of esophageal candidiasis according to Kodosi's classification. *Dis Esophagus* 2013.
- Avni T, Leibovichi L, Paul M. PCR. Diagnosis of invasive candidiasis: Systematic review and meta-analysis. *J. Clin Microbiol* 2011;665-670.
- Baccaglini L, Atkinson JC, Patton LL, Glick M, Ficarra G, y Peterson DE. Management of oral lesions in HIV-positive patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007;103:S50-S23.
- Back-Brito GN, Mota EAJ, Vasconcellos ETC, Querido ESM, Jorge EAO, Reis EAS y cols. Frequency of *Candida* spp. in the oral cavity of brazilian HIV-positive patients and correlation with CD4 cell counts and viral load. *Mycopathol* 2009;167:167-181.
- Badiee P, Alborzi A, Davarpanah M, Shakiba E. Distribution and antifungal susceptibility of *Candida* species from mucosal site in HIV patients. *Arch Iran Med* 2010;13:282-287.
- Baradkar VP, Kumar S. Species identification of *Candida* isolates obtained from oral lesions of HIV infected patients. *Indian J Dermatol* 2009;54:385-6.
- Berberi A, Noujeim Z, Aoun G. Epidemiology of oropharyngeal candidiasis in HIV/AIDS patients and CD4+ counts. *J Int Oral Health* 2015;7:20-23.
- Blankenship JR, Mitchell A. How to build a biofilm: a fungal perspective. *Curr Opin Microbiol* 2006;9:588-594.
- Borst A, Raimer MT, Warnock DW, Morrison CJ, Arthington-Skaggs BA. Rapid acquisition of stable azole resistance by *Candida glabrata* isolates obtained before the clinical introduction of fluconazole. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:783-7.
- Brandt AM. How AIDS invented global health. *N Eng J Med* 2013;368:2149-2152.
- Brooks JT, Kaplan JE, Masur H. What's new in the 2009 US guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections among adults and adolescents with HIV? *Top HIV Med* 2009;17:109-14.
- Carpio E, López V, Fardales V, Benítez I. Oral manifestations of HIV infection in adult patients from the province of Sancti Spiritus, Cuba. *J Oral Pathol Med* 2009;38:126-131.

- Cashin K, Jakobsen MR, Sterjovski J, Roche M, Ellett A, Flynn JK y cols. Linkages between HIV-1 specificity for CCR5 or CXCR4 and in vitro usage of alternative coreceptors during progressive HIV-1 subtype C infection. *Retrovirol* 2013;101-110.
- Cassone A, Cauda R. *Candida* and candidiasis in HIV-infected patients: where commensalism, opportunistic behavior and frank pathogenicity lose their borders. *AIDS* 2012;26:1457-1472.
- Centro Nacional para la Prevención y el Control del VIH/SIDA (CENSIDA 2014) Guía de manejo antirretroviral para personas con VIH Disponible en: http://www.censida.salud.gob.mx/descargas/principal/Guia_ARV_2014V8.pdf. Fecha de consulta: 20 de junio de 2015.
- Centro Nacional para la Prevención y el Control del VIH/SIDA (CENSIDA 2014). Informe de vigilancia epidemiológica. Disponible en: www.censida.salud.gob.mx/.../epidemiologia/RN_2do_trim_2014_2.pdf. Fecha de consulta: 23 de abril de 2015.
- Centro Nacional para la Prevención y el Control del VIH/SIDA (CENSIDA 2013). Informe de vigilancia epidemiológica. Disponible en: http://www.censida.salud.gob.mx/descargas/epidemiologia/RN_CIERRE_2013.pdf Fecha de consulta: 15 de junio de 2014.
- Cerqueira DF, Portela MB, Pomarico L, de Araújo Soares RM, de Souza IP, Castro GF. Oral *Candida* colonization and its relation with predisposing factors in HIV-infected children and their uninfected siblings in Brazil: the era of highly active antiretroviral therapy. *J Oral Pathol Med*. 2010;39:188-194.
- Cheng SC, van de Veerdonk FL, Lenardon M, Stoffels M, Plantinga T, Smeekens S y cols. The dectin-1/inflammasome pathway is responsible for the induction of protective T-helper 17 responses that discriminate between yeasts and hyphae of *Candida albicans*. *J Leukoc Biol*. 2011;90:357-366.
- Chidzonga MM, Mwale M, Malvin K, Martin JN, Greenspan JS, Shiboski CH. Oral candidiasis as a marker of HIV disease progression among Zimbabwean women. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008;47:579-584.
- Comisión Nacional contra las Adicciones (CONADICT 2011). Encuesta Nacional para las adicciones: Reporte de Drogas. Disponible en: http://www.conadic.salud.gob.mx/pdfs/ENA_2011 DROGAS_ILICITAS_.pdf Fecha de consulta: 15 abril de 2014.
- Comisión Nacional contra las Adicciones (CONADICT 2003). Encuesta Nacional para las adicciones. Disponible en: http://www.inegi.gob.mx/prod_serv/contenidos/espanol/bvinegi/productos/continuas/sociales/salud/2003/ena02.pdf Fecha de consulta: 15 abril de 2014.
- Coogan MM, Greenspan J, Challacombe S. Oral lesions in infection with human immunodeficiency virus. *WHO* 2005;83:700-706.
- Coronado CL, Jiménez SY. Clinical and microbiological diagnosis of oral candidiasis. *J Clin Exp Dent* 2013;5:e279-e286.
- da Silva CA, Dourado I, Dahia SR, Harzhelm E, Rutherford GW. Oral Manifestations of HIV Infection in Patients Receiving Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) in Bahia, Brazil. *J Pub Health Dent* 2008;68:178-181.
- de Bernardis F, Tacconelli E, Mondello F, Cataldo A, Arancia S, Cauda R, y cols. Anti-retroviral therapy with protease inhibitors decreases virulence enzyme expression in vivo by *Candida albicans* without selection of avirulent fungus strains or decreasing their anti-mycotic susceptibility. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2004;41:27-34.
- Ellepola ANB, Morrison CJ. Laboratory diagnosis of invasive candidiasis. *J Microbiol* 2005;43:65-84.
- Enwuru CA, Ogunledum A, Idika N, Enwuru NV, Ogbonna, Aniedobe M y cols. Fluconazole resistant opportunistic oro-pharyngeal *Candida* and *non candida* yeast like isolates from HIV infected patients attending ARV clinics in Lagos, Nigeria. *Afr Health Sci* 2008;8:142-148.

- Epstein JB, Pearsall NN, Truelove E. Quantitative relationship between *Candida albicans* in saliva and clinical status of human subjects. J Clinical Microbiol 1980;12:475-476.
- Food and drugs Administration (FDA 2014). Drugs used in the treatment of HIV infection. Disponible en: <http://www.fda.gov/forpatients/illness/hivaids/ucm118915.htm>. Fecha de consulta: 29 de julio de 2015.
- Gaitán-Cepeda LA, Sánchez-Vargas O, Castillo N. Prevalence of oral candidiasis in HIV/AIDS children in highly active antiretroviral therapy-era. A literature analysis. Int J STD AIDS 2014;26:625-32. Gaitán-Cepeda LA, Martínez-González M, Ceballos-Salobreña A. Oral candidosis as a clinical marker of immune failure in patients with HIV/AIDS on HAART. AIDS Patient Care STDS. 2005;19:70-77.
- Gaurav S, Keerthilatha PM, Archana N. Prevalence of oral manifestations and their association with CD4/CD8 ratio and HIV viral load in South India. Int J Dent 2001;1-8.
- Giuliani M, Lajolo C, Sartorio A, Ammassari A, Lacaita MG, Scivetti M y cols. Oral lesions in HIV and HCV co-infected individuals in HAART era. J Oral Pathol Med 2008;37:468-474. Gow NA, Van de Veerdonk FL, Brown AJ, Netea MG. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasión from colonization. Nat Rev Microbiol 2011;10:112-122. Green JC, Vermillion JR. The simplified oral hygiene index. J Am Dent Assoc 1964;68:25-31.
- Gümrü BT. Oral candidosis: aetiology, clinical manifestations, diagnosis and management. Müsbed 2011;1:140-148.
- Hasan F, Xess I, Wang X, Jain N, Fries BC. Biofilm formation in clinical *Candida* isolates and its association with virulence. Microbes & Infect 2009;11:753-761.
- Jacobsen ID, Wilson D, Wächtler B, Brunke S, Naglik JR, Hube B. *Candida albicans* dimorphism as a therapeutic target. Exp Rev Anti Infect Ther 2012;10:85-93.
- Jeddy N, Ranganathan K, Devi U, Joshua E. A study of antifungal drug sensitivity of *Candida* isolated from human immunodeficiency virus infected patients in Chennai, South India. J Oral Max Pathol 2011;15:182-186.
- Junqueira JC, Fuch BB, Muhammed M, Coleman J, Suleiman JM, Vilela SFG, y cols. Oral *Candida albicans* isolates from HIV-positive individuals have similar in vitro biofilm-forming ability and pathogenicity as invasive *Candida* isolates. BMC Microbiol 2011;11:1-9.
- Khan Z, Ahmad S, Joseph L, Chandy R. *Candida dubliniensis*: an appraisal of its clinical significance as a bloodstream pathogen. PLOS One 2012;7:1-6.
- Kirkpatrick WR, Revankar SG, Mcatee RK, Lopez-Ribot JL, Fothergill AW, McCarthy DI. Detection of *Candida dubliniensis* in oropharyngeal samples from human immunodeficiency virus-infected patients in North America by primary CHROMagar *candida* screening and susceptibility testing of isolates. J Clin Microbiol 1998;36:3007-3012.
- Kumar BV, Padshetty NS, Bai KY, Rao MS. Prevalence of *Candida* in the oral cavity of diabetic subjects. J Assoc Physicians India. 2005;53:599-602.
- Kwamin F, Nartey NO, Codjoe FS, Mewman M. Distribution of *Candida* species among HIV-positive patients with oropharyngeal candidiasis in Accra, Ghana. J Infect Dev Ctries 2013;7:41-45.
- Leao JC, Ribeiro CM, Carvalho AA, Frezzini C, Porter S. Oral complications of HIV disease. Clinics (Sao Paulo) 2009;64:459-470.
- Levy JA. HIV pathogenesis: 25 years of progress and persistent challenges. AIDS 2009;23:147-160.
- Lewis RE, Viale P, Kontoyiannis DP. The potential impact of antifungal drug resistance mechanisms on the host immune response to *Candida*. Virulence 2012;3:368-376.
- Li YY, Chen WY, Li X, Li HB, Wang L, cols. Asymptomatic oral yeast carriage and antifungal susceptibility profile of HIV-infected patients in Kunming, Yunnan Province of China. BMC Infect Dis 2013;13-46.

- López-Jornet P, Bermejo-Fenoll A, Bagan-Sebastian JV, Pascual-Gomez E. Comparison of a new test for the measurement of resting whole saliva with the draining and the swab techniques. *Braz Dent J* 1996;7:81-86.
- Lopez-Verdin S, Torrecilla-Ramirez A, Horta-Sandoval C, Andrade-Villanueva JF, Bologna-Molina R. Oral candidiasis as a clinical marker of highly active antiretroviral treatment failure in HIV-infected patients. *Infectio* 2014;18:45-49.
- Lortholary O, Petrikkos G, Akova M, Arendrup MC, Arikan-Akdagli S, y Bassetti M, ESCMID guideline for the diagnosis and management of *Candida* diseases 2012: patients with HIV infection or AIDS. *Clin Microbiol Infect* 2012;18:68-77.
- Lourenço AG, Motta AC, Figueiredo LT, Machado AA, Komesu MC. Oral lesions associated with HIV infection before and during the antiretroviral therapy era in Ribeirão Preto, Brazil. *J Oral Sci* 2011;53:379-385.
- Lusvardi WA, da Silveira FRX, Costa PMF, Andrade LM. Oral candidiasis in HIV+ patients under treatment with protease inhibitors. *Braz Oral Res* 2008;22:371-7.
- Mane A, Pawale C, Gaikwad S, Bembalkar S, Risbud A. Adherence to buccal epithelial cells, enzymatic and hemolytic activities of *Candida* isolates from HIV-infected individuals. *Med Mycol* 2012;49:548-551.
- Martínez M, López RJL, Kirkpatrick WR, Coco BJ, Bachmann SP, Patterson TF. Replacement of *Candida albicans* with *C. dubliniensis* in human immunodeficiency virus-infected patients with oropharyngeal candidiasis treated with fluconazole. *J Clin Microbiol* 2002;40:3135-3139.
- Maurya V, Srivastava A, Mishra J, Gaiind R, Marak RSK, Kumar TA y cols. Oropharyngeal candidiasis and *Candida* colonization in HIV positive patients in northern India. *HIV/AIDS Res Palliative Care* 2013;2:89-101.
- McCullough M, Patton LL, Coogan M, Fidel PL, Domesu M, Ghannoum M, y cols. *Candida* and oral mycotic infections: workshop 2A. *Adv Dent Res* 2011;23:152-158.
- Miedema F, Hazenberg MD, Tesselaar K, Baarle D, Boer RJ, Borghans JAR. Immune activation and collateral damage in AIDS pathogenesis. *Frontiers Immunol* 2013;4:1-14.
- Miziara ID, Weber R. Oral lesions as predictors of highly active antiretroviral therapy failure in Brazilian HIV-infected children. *J Oral Pathol Med* 2008;37:99-106.
- Moreira D, Spolidório DM, Rodrigues JA, Boriollo MF, Pereira CV, Rosa EA y cols. *Candida* spp. biotypes in the oral cavity of school children from different socioeconomic categories in Piracicaba-SP, Brazil. *Pesqui Odontol Bras* 2001;15:187-195.
- Mukherjee PK, Zhou G, Munyon R, Ghannoum MA. *Candida* biofilm: a well-designed protected environment. *Med Mycol* 2005;43:191-208.
- Mulu A, Kassu A, Anagaw B, Moges B, Gelaw A, Alemayehu M y cols. Frequent detection of azole resistant *Candida* species among late presenting AIDS patients in northwest Ethiopia. *BMC Infect Dis* 2013;13:1-10.
- Netea MG, van de Veerdonk F, Verschueren I, van der Meer JW, Kullberg BJ. Role of TLR1 and TLR6 in the host defense against disseminated candidiasis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2008;52:118-123.
- Netea MG, Van der Graaf C, Van der Meer JW, Kullberg BJ. Recognition of fungal pathogens by Toll-like receptors. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2004;23:672-676.
- Niimi M, Firth NA, Cannon RD. Antifungal drug resistance of oral fungi. *Odontology* 2010;98:15-25.
- Nishimura S, Nagata N, Shimbos T, Asayana N, Akiyama J, Ohmagari N, y cols. Factors associated with esophageal candidiasis and its endoscopic severity in the era of antiretroviral therapy. *PLOS One* 2013;8:1-6.

- Nittayananta W, Talungchit S, Jaruratanasirikul S, Silpapojakul K, Chayakul P, Nilmanat A, Pruphetkaew N. Effects of long-term use of HAART on oral health status of HIV-infected subjects. *J Oral Pathol Med* 2010;39:397-406.
- Nogueira GP, da Silva WJ, Cordeiro PC, Orsini NEA, Del Bel Cury AA. Bioactivity and cellular structure of *Candida albicans* and *Candida glabrata* biofilms grown in the presence of fluconazole. *Arch Oral Biol* 2011;56:1274-1281.
- Ortega KL, Vale DA, Magalhães MH. Impact of PI and NNRTI HAART-based therapy on oral lesions of Brazilian HIV-infected patients. *J Oral Pathol Med*. 2009;38:489-494.
- Owotade FJ, Patel M, Ralephenyas TR, Vergotine G. Oral *Candida* colonization in HIV-positive women: associated factors and changes following antiretroviral therapy. *J Med Microbiol* 2013;62:126-132.
- Pandit A, Vadlamudi J. y Sinha S. Analysis of dinucleotide signatures in HIV-1 subtype B genomes. *J Genet* 2013;92:403-412.
- Pappas PG, Kauffman CA, Andes D, Benjamin DK, Calandra TF, Edwards JE y cols. Clinical Practice Guidelines for the Management of Candidiasis: 2009 Update by the Infectious Diseases Society of America. *CID* 2009;48:503-535.
- Parihar S. Oral Candidiasis- A Review. *Web Med Cent* 2011;2:1-18.
- Patel PK, Erlandsen JE, Kirkpatrick WR, Berg DK, Wetbrook SD, Loudon C, y cols. The changing epidemiology of oropharyngeal candidiasis in patients with HIV/AIDS in the era of antiretroviral therapy. *AIDS Res & Ther* 2012;2012:1-5.
- Patton LL, Ramírez-Amador VA, Anaya-Saavedra G, Nittayananta W, Carrozzo M, Ranganathan K. Urban legends series: oral manifestation of HIV infection. *Oral Dis* 2013;19:533-550.
- Pfaller M, Neofytos D, Diekema D, Azie N, Meier-Kriesche HU, Quan SP, Horn D. Epidemiology and outcomes of candidemia in 3648 patients: data from the Prospective Antifungal Therapy (PATH Alliance®) registry, 2004-2008. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2012;74:323-331.
- Pfaller MA, Dieema DJ, Colombo AL, Kibbler C, Ng KP, Gibbs DL y cols. *Candida rugosa*, an emerging fungal pathogen with resistance to azoles: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program. *J Clin Microbiol* 2006;44:3578-3582.
- Pienaar ED, Young T, Holmes H. Interventions for the prevention and management of oropharyngeal candidiasis associated with HIV infection in adults and children. *Cochrane Database Syst Rev* 2010;10.
- Pinzone MR, Di Rosa M, Cacopardo B, Nunnari G. HIV RNA suppression and immune restoration: can we do better? *Clin Dev Immunol* 2012;2012:515962.
- Prakash L, Kantheti C, Reddy BVR, Ravikumar S, Anuradha CH, Chandrasekhar P, y cols. Isolation, identification and carriage of candidal species in PHLAs and their correlation with immunological status in cases with and without HAART. *J Oral Maxillofac Pathol* 2012;16:38-41.
- Quindos G, Eraso E, Ecurra PA, Carrillo-Muñoz AJ. Procesamiento de las muestras de la cavidad oral y otorrinolaringológicas. *Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica. Revista Iberoamericana de Micología, Bilbao* 2007;8:1-9.
- Ramírez-Amador V, Anaya-Saavedra G, Calva JJ, Clemades-Pérez-de-Corcho T, López-Martínez C, González-Ramírez I y cols. HIV-related oral lesions, demographic factors, clinical staging and anti-retroviral use. *Arch Med Res* 2006;37:646-654.
- Ramírez-Amador V, Ponce-de-León S, Anaya-Saavedra G, Crabtree Ramírez B, Sierra-Madero J Oral lesions as clinical markers of highly active antiretroviral therapy failure: a nested case-control study in Mexico City. *Clin Infect Dis* 2007;45:925-932.
- Ranganathan K, Hemalatha R. Oral lesions in HIV infection in developing countries: an overview. *Adv Dent Res* 2006;19:63-68.

- Reeves JD, Piefer AJ. Emerging drug targets for antiretroviral therapy. *Drugs* 2005;65:1747-1766.
- Repentigny L, Lewandowski D, Jolicoeur P. Immunopathogenesis of oropharyngeal candidiasis in human immunodeficiency virus infection. *Clin Microbiol Rev* 2004;17:729-759.
- Roed-Petersen B, Renstrup G. A topographical classification of the oral mucosa suitable for electronic data processing. Its application to 560 leukoplakias. *Acta Odontol Scand* 1969;27:681-695.
- Sánchez VLO, Estrada BD, Pozos GAJ, Rivas CR. Biofilm formation by oral clinical isolates of *Candida* species. *Arch Oral Biol* 2013;58:1318-1326.
- Sánchez VLO, Ortiz LNG, Villar M, Moragues MD, Aguirre JM, Cashat CM y cols. Point prevalence, microbiology and antifungal susceptibility patterns of oral *Candida* isolates colonizing or infecting Mexican HIV/AIDS patients and healthy persons. *Rev Iberoam Micol* 2005;22:83-92.
- Shiboski CH, Patton LL, Webster CJY, Greenspan D, Traboulsi RS, Ghannoun M y cols. The Oral HIV/AIDS Research Alliance: updated case definitions of oral disease endpoints. *Oral Pathol Med* 2009;149:1-8.
- Shiboski CH, Webster CJY, Ghannoun M, Greenspan JS, Dittmer D. Overview of the Oral HIV/AIDS Research Alliance Program. *Adv Dent Res* 2011;23:28-33.
- Singh A, Verma R, Murari A, Agrawal A. Oral candidiasis: An overview. *J Oral Maxillofac Pathol* 2014;18:S81-S85.
- Silva LE, Scheid LA, Nogueira CW, Zeni G, Santurio JM, Alves SH. *Candida dubliniensis*: Epidemiology and Phenotypic Methods for Identification. *Mycopathol* 2010;169:431-443.
- Srivastava B, Bhatia HP, Chaudhary V, Aggarwal A, Kumar Singh A, Gupta N. Comparative Evaluation of Oral *Candida albicans* Carriage in Children with and without Dental Caries: A Microbiological in vivo Study. *Int J Clin Pediatr Dent* 2012;5:108-112.
- Swanstrom R, Coffin J. HIV-1 pathogenesis: the virus. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2012;2:1-11.
- Takeuchi JS, Perche B, Migraine J, Mercier-Delarue S, Ponscarne D, Simon F y cols. High level of susceptibility to human TRIM5 α conferred by HIV-2 capsid sequences. *Retrovirology* 2013;10:1-11.
- Tamí-Maury IM, Willig JH, Jolly PE, Vermund S, Aban I, Hill JD, Wilson CM y cols. Prevalence, incidence, and recurrence of oral lesions among HIV-infected patients on HAART in Alabama: a two-year longitudinal study. *South Med J* 2011;104:561-566.
- Tassara R, Alarcón T, Larrañaga C, Wu E, Alvarez AM. Digestive pathology in children infected with the human immunodeficiency virus (HIV), in Santiago de Chile. *Rev Med Chil* 2003;131:19-24.
- Tumbarello M, Tacconelli E, Donati KG, Morace G, Fadda G, Cauda R. Candidemia in HIV-infected subjects. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18:478-483.
- Joint United Nation Program on HIV/AIDS (UNAIDS 2014) World AIDS Day 2014 Report. Global Statistics. Disponible en: <http://www.unaids.org/en/resources/campaigns/World-AIDS-Day-Report-2014/factsheet> Fecha de consulta: 20 de junio de 2015.
- Joint United Nation Program on HIV/AIDS (UNAIDS 2013) Global Report. Disponible en: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_Global_Report_2013_en_1.pdf. Fecha de consulta: 15 de junio de 2014.
- Vazquez JA. Optimal management of oropharyngeal and esophageal candidiasis in patients living with HIV infection. *HIV/AIDS Res Palliative Care* 2010;2:89-101.
- Valdespino-Gómez JL, García-García Mde L, del Río-Zolezzi A, Loo-Méndez E, Magis-Rodríguez C, Salcedo-Alvarez RA. The epidemiology of AIDS/HIV in Mexico: from 1983 to March 1995. *Salud Pública Mex* 1995 Nov-Dec;37(6):556-71.
- Williams I, Churchill D, Anderson J, Boffito M, Bower M, Cairns G y cols. British HIV Association guidelines for the treatment of HIV-1-positive adults with antiretroviral therapy. *HIV Med* 2012;13:1-85.
- Williams D, Lewis M. Pathogenesis and treatment of oral candidosis. *J Oral Microbiol* 2011;3:1-111.

- Zepelin M, Niederhaus T, Gross U, Seibold M, Monod M, Tintelnot K. Adherence of different *Candida dubliniensis* isolates in the presence of fluconazole. AIDS 2002;16:1237-1244.

12. Anexos

Anexo 1.

Criterios para el inicio de la terapia antirretroviral (SSA/CENSIDA 2014)

Guía del manejo antirretroviral de personas con VIH					
Condición o circunstancia		Conteo de CD4+ (células por mm ³)			
		<350	350-500	>500	
Enfermedad asintomática por el VIH		R	Considerar*	Considerar	
Reducir la transmisión del VIH			Considerar	Considerar	
Enfermedad sintomática por el VIH (estadio B o C del CDC*) incluida la tuberculosis			Recomendado	Recomendado	
Primoinfección por VIH (especialmente con síndrome retroviral agudo)		E	Considerar	Considerar	
Caída del conteo celular de CD4+ >100 células/mm ³ en un año		C	Recomendado	Recomendado	
Carga viral del VIH en plasma alta (más de 100,000 copias/ml)			Considerar	Considerar	
Edad mayor a 55 años		O	Recomendado	Considerar	
Embarazo		M	Recomendado	Recomendado	
Condiciones asociadas al VIH no incluidas en categorías B o C del CDC			Nefropatía	Recomendado	Recomendado
		Deterioro cognitivo	Recomendado	Recomendado	
		Linfoma de Hodgkin	E	Recomendado	Recomendado
		Neoplasia asociadas a VPH*		Recomendado	Recomendado
		Neoplasias en tratamiento con quimio o radioterapia	N	Considerar	Considerar
		Enfermedades autoinmunes		Considerar	Considerar
		Alto riesgo cardiovascular (riesgo estimado a 10 años mayor al 20%)	D	Considerar	Considerar
		Hepatitis crónica activa por virus B que requiere tratamiento anti VHB	A	Recomendado	Recomendado
		Hepatitis crónica activa por virus B que no requiere tratamiento anti VHB	D	Recomendado	Recomendado
		Hepatitis crónica activa por virus C que requiere tratamiento anti VHC	O	Recomendado	Recomendado
Hepatitis crónica activa por virus C en la que el tratamiento anti VHC no es factible	Recomendado	Recomendado			

Considerar* (la terapia antirretroviral se analiza y ofrece minuciosamente con cada paciente para informarle de sus pros y contras de manera individualizada)

CDC** (Centro para el control y la prevención de enfermedades de Estados Unidos)

VPH*** (Virus de papiloma humano)

Medicamentos para el tratamiento de VIH aprobados por la FDA. (FDA 2014)

Nombre genérico	Marca comercial	Fecha de aprobación
Inhibidores de la transcriptasa inversa análogos de los nucleósidos (ITIN)		
Abacavir (sulfato de abacavir, ABC)	Ziagen	17 de diciembre del 1998
Didanosina (didanosina de liberación retardada, dideoxinosina, didanosina revestimiento entérico, ddI, ddI EC)	Videx	9 de octubre del 1991
	Videx EC (recubrimiento entérico)	31 de octubre del 2000
Emtricitabina (FTC)	Emtriva	2 de julio del 2003
Lamivudina (3TC)	Epivir	17 de noviembre del 1995
Estavudina (d4T)	Zerit	24 de junio del 1994
Fumarato de disoproxilo de tenofovir (tenofovir DF, TDF)	Viread	26 de octubre del 2001
Zidovudina (azidothymidina, AZT, ZDV)	Retrovir	19 de marzo del 1987
Inhibidores de la transcriptasa inversa no análogos de los nucleósidos (ITINN)		
Delavirdina (mesilato de delavirdina, DLV)	Rescriptor	4 de abril del 1997
Efavirenz (EFV)	Sustiva	17 de septiembre del 1998
Etravirina (ETR)	Intelence	18 de enero del 2008
Nevirapina (NVP)	Viramune	21 de junio del 1996
	Viramune XR (extended release)	25 de marzo del 2011
Rilpivirina (clorhidrato de rilpivirina, RPV)	Edurant	20 de mayo del 2011
Inhibidor de la proteasa (IP)		
Atazanavir	Reyataz	20 de junio del 2003

(sulfato de atazanavir, ATV)		
Darunavir (etanolato de darunavir, DRV)	Prezista	23 de junio del 2006
Fosamprenavir (fosamprenavir cálcico, FOS-APV, FPV)	Lexiva	20 de octubre del 2003
Indinavir (sulfato de indinavir, IDV)	Crixivan	13 de marzo del 1996
Nelfinavir (mesilato de nelfinavir, NFV)	Viracept	14 de marzo del 1997
Ritonavir (RTV)	Norvir	1 de marzo del 1996
Saquinavir (mesilato de saquinavir, SQV)	Invirase	6 de diciembre del 1995
Tipranavir (TPV)	Aptivus	22 de junio del 2005
Inhibidores de la fusión		
Enfuvirtida (T-20)	Fuzeon	13 de marzo del 2003
Inhibidores de la entrada		
Maraviroc (MVC)	Selzentry	6 de agosto del 2007
Inhibidores de la integrasa		
Dolutegravir (DTG)	Tivicay	13 de agosto del 2013
Elvitegravir (EVG)	Vitekta	24 de septiembre del 2014
Raltegravir (potasio de raltegravir, RAL)	Isentress	12 de octubre del 2007
Combinación de medicamentos contra el VIH		
Esta clase de medicamentos contiene dos o más medicamentos contra el VIH de una o más clases.		
Abacavir y lamivudina (sulfato de abacavir / lamivudina, ABC / 3TC)	Epzicom	2 de agosto del 2004
Abacavir, dolutegravir y lamivudina (sulfato de abacavir / dolutegravir sódico / lamivudina, ABC / DTG /	Triumeq	22 de agosto del 2014

3TC)		
Abacavir, lamivudina y zidovudina (sulfato de abacavir / lamivudina / zidovudina, ABC / 3TC / ZDV)	Trizivir	14 de noviembre del 2000
Atazanavir y cobicistat (sulfato de atazanavir / cobicistat, ATV / COBI)	Evotaz	29 de enero del 2015
Darunavir y cobicistat (darunavir etanolato / cobicistat, DRV / COBI)	Prezcobix	29 de enero del 2015
Efavirenz, emtricitabina y fumarato de disoproxilo de tenofovir (efavirenz / emtricitabina / tenofovir, efavirenz / emtricitabina / tenofovir DF, EFV / FTC / TDF)	Atripla	12 de julio del 2006
Elvitegravir, cobicistat, emtricitabina, y fumarato de disoproxilo de tenofovir (QUAD, EVG / COBI / FTC / TDF)	Stribild	27 de agosto del 2012
Emtricitabina, rilpivirina y fumarato de disoproxilo de tenofovir (emtricitabina / clorhidrato de rilpivirina / fumarato de disoproxilo de tenofovir, emtricitabina / rilpivirina / tenofovir, FTC / RPV / TDF)	Complera	10 de agosto del 2011
Emtricitabina y fumarato de disoproxilo de tenofovir (emtricitabina / tenofovir, FTC / TDF)	Truvada	2 de agosto del 2004
Lamivudina y zidovudina (3TC / ZDV)	Combivir	27 de septiembre del 1997
Lopinavir y ritonavir (lopinavir reforzado con ritonavir, LPV/r, LPV / RTV)	Kaletra	15 de septiembre del 2000
Intensificadores farmacocinéticos		
Esta clase de medicamentos se usan en el tratamiento del VIH para incrementar la eficacia de un medicamento contra el VIH incluido en un régimen contra ese virus.		
Cobicistat (COBI)	Tybost	24 de septiembre del 2014

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Características fenotípicas y genotípicas en las especies de *Candida* aisladas de la mucosa bucal de pacientes con VIH/SIDA.

El objetivo de esta investigación es establecer la relación que existe entre los factores de virulencia de especies de *Candida* y la presencia de colonización o infección y los parámetros clínicos (TARAA) y de laboratorio (CD4+, carga viral) de los pacientes con VIH/SIDA. Lo anterior, nos permitirá la elección del tratamiento más adecuado para candidosis bucal y mejorar así la calidad de vida de los pacientes.

La candidosis bucal es la infección fúngica oportunista más común en los pacientes con VIH/SIDA, se tienen reportes que cerca del 90% de los estos pacientes tienen candidosis bucal. Si esta infección no se trata correctamente puede evolucionar a candidosis orofaríngea y esofágica causando síntomas más severos como dificultad para deglutir, dolor al deglutir, alteración en la percepción de los sabores, hemorragia y fístula esofagotraqueal.

Para esta investigación se requerirá de un cuestionario (donde se obtendrán datos personales, antecedentes patológicos personales), de una toma de muestra de saliva, una exploración bucal y en caso de que se encuentren signos compatibles con infección por *Candida* se realizará la toma de una citología de la zona afectada (que consiste en hacer un raspado del área con un abatelenguas y se colocará sobre un portaobjetos y se fijará con citospray), la cual será analizada en el laboratorio y si resulta positiva se dará tratamiento antimicótico. Estos procedimientos únicamente se realizarán en una sola ocasión.

Su participación en esta investigación es totalmente voluntaria. Usted puede elegir participar o no hacerlo. Tanto si elige participar o no, continuarán todos los servicios que reciba en esta clínica y nada cambiará. Usted puede retirarse del proyecto posteriormente aún cuando haya aceptado con anterioridad si así lo desea.

Las muestras recolectadas serán llevadas al laboratorio y se realizarán cultivos con medios específicos para poder determinar los factores de virulencia de acuerdo al tipo de especie aislada y se establecerá también su resistencia antifúngica. Esto nos permitirá conocer si los tratamientos implementados hasta este momento tanto para controlar la candidosis como para tratar la infección por VIH/SIDA bucal han sido los más adecuados y si no ha sido así implementar un cambio en los tratamientos que permitan disminuir la frecuencia de esta infección fúngica.

Los beneficios de participar en la investigación es que si resulta positivo para infección por *Candida* recibirá tratamiento, de la misma manera si se encontrara otra lesión que no tenga que ver con candidosis se le informará, se explicará su origen y realizará tratamiento en caso de requerirlo.

Toda la información obtenida así como los datos de laboratorio serán confidenciales y sólo serán utilizados para fines de la presente investigación y únicamente tendrán acceso a ella los investigadores que participan en el proyecto.

Si tiene cualquier pregunta puede hacerla ahora o más tarde, incluso después de haberse iniciado el estudio.

He leído la información proporcionada o me ha sido leída. He tenido la oportunidad de preguntar sobre ella y se me ha contestado satisfactoriamente las preguntas que he realizado. Consiento voluntariamente participar en esta investigación como participante y entiendo que tengo el derecho de retirarme de la investigación en cualquier momento sin que me afecte en ninguna manera mi cuidado médico.

Nombre del participante _____

Firma del participante _____

Fecha (____ / ____ / ____)

Día/mes/año

Nombre del testigo _____

Firma del testigo _____

Fecha (____ / ____ / ____)

Día/mes/año

Nombre del Investigador _____

Firma del Investigador _____

Fecha (____ / ____ / ____)

Día/mes/año

Ficha recolección de datos

Resistencia antifúngica, dimorfismo y formación de biopelícula en especies de *Candida* aisladas en la mucosa bucal de pacientes con VIH/SIDA.

Fecha: (___ / ___ / ___) ID _____ No. Exp.: _____

1. DATOS SOCIODEMOGRÁFICOS
 Nombre: _____ Fecha nacimiento: (___ / ___ / ___) Edad: _____ años. Estado civil: (___) Escolaridad: (___)
 Ocupación: _____ Lugar de nacimiento: _____ Lugar de residencia _____

2. MODIFICADORES
 Enfermedades Sistémicas Sí (___) No (___) Cuál: (___) (___) (___) (___)
 Consumo de fármacos Sí (___) No (___) Cuál: (___) (___) (___) (___)

Consumo de tabaco Sí ___ No ___ Ex -fumador Sí ___ No ___ No/día ___ No/sem ___ No/mes ___ No/año ___ Inicio ___ /término ___
 Consumo de alcohol Sí ___ No ___ Ex -bebedor Sí ___ No ___ UB/día ___ UB/sem ___ UB/mes ___ UB/año ___ Inicio ___ /término ___
 (Cerveza y pulque 330 ml, vino 125 ml, tequila, ron, licor, mezcal, whisky, vodka, brandy 30ml)

Prótesis dental Sí (___) No (___) Tipo: (___) (___) (___)

3. VIH/SIDA
 Fecha dx. VIH: (___ / ___ / ___)
 Signos y síntomas iniciales: (___) (___) (___) (___) (___) (___)
 LB inicial: (___) Localización: (___) (___) (___)
 (___) Localización: (___) (___) (___)
 TARA. inicial: _____

CDC _____ CD4+ NAD: _____
 Neutros _____ C. Viral _____ CD4+ _____ Fecha : (___ / ___ / ___)
 Linfos. Tot.: _____ Leucos _____
 Tx: _____
 Tx: _____ Fecha: (___ / ___ / ___)

Signos y síntomas actuales: (___) (___) (___) (___) (___) (___)
 TARA. actual: _____

C. Viral _____ CD4+ _____ Fecha : (___ / ___ / ___)
 Neutros _____ Linfos. Tot.: _____ Leucos _____ Glucosa: _____
 Fecha: (___ / ___ / ___)

4. CANDIDOSIS BUCAL
 Signos clínicos compatibles: Sí (___) No (___)

Tipo: (___) Localización: (___) (___) (___) (___) (___)
 Tipo: (___) Localización: (___) (___) (___) (___) (___)
 Tx.: _____

No. Frotis: _____ Positivo: (___) Negaivo: (___)
 No. Frotis: _____ Positivo: (___) Negaivo: (___)

Síntomas: Sí (___) No (___) Cuál: (___) (___) (___) (___)
 Signos clínicos comp. posterior a tx.: Sí (___) No (___)
 Otro (especifique) : _____
 Tx.: _____ Fecha: (___ / ___ / ___)

5. LESIONES BUCALES ACTUALES
 LB actual: (___) Localización: (___) (___) (___) (___) (___)
 (___) Localización: (___) (___) (___) (___) (___)
 (___) Localización: (___) (___) (___) (___) (___)
 Tx: _____
 Tx: _____
 Tx: _____

6. TOMA DE MUESTRA DE SALIVA
 Saliva: Sí (___) No (___) Cantidad: _____ ml/5min
 Observaciones: _____

Diente	IHOS							
	PDB				SARRO			
	0	1	2	3	0	1	2	3
16								
11								
26								
36								
31								
46								

Código

Toma de sialometría

Para establecer si existe hiposalivación se realizará un Test de Saliva Global (TSG) utilizando la técnica elaborada en 1996 por López-Jornet y cols. (López-Jornet y cols. 1996) que consiste en una modificación realizada al test de Schimer, para la cual se utilizará una tira de papel filtro de Whatman de No. 41 que mide 17 cm de largo por 1 cm de ancho, la cual está milimetrada y se encuentra dentro de una bolsa esterilizada de polietileno de baja densidad.

La medición de saliva no estimulada se debe realizar preferentemente entre las 9:00 am y las 12:00 pm, el paciente no debe haber comido, fumado o cepillado sus dientes por lo menos 2 h antes de la medición.

Los pasos para la toma del TSG son los siguientes:

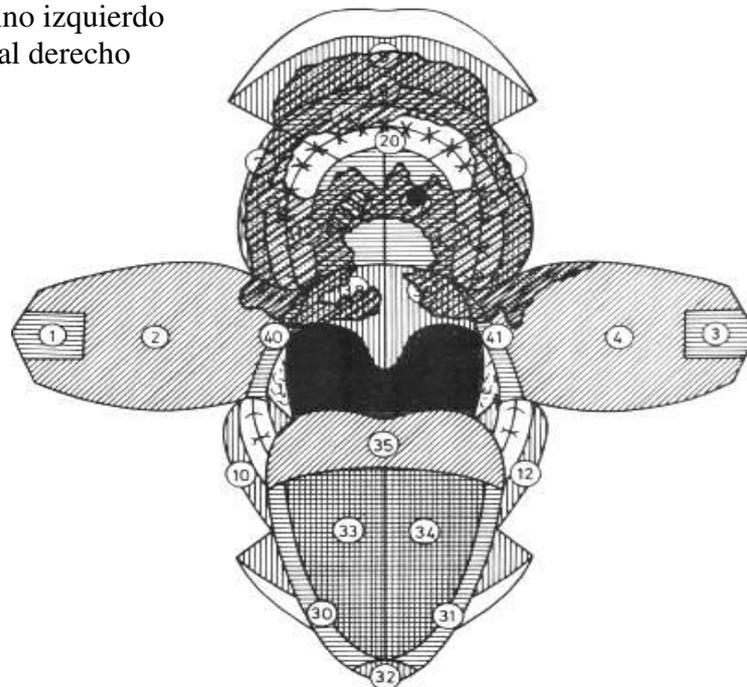
1. Antes de iniciar la prueba, se le indica al paciente que debe tragar la saliva que tiene en la boca.
2. Se extrae 1cm de la tira de papel filtro fuera de la bolsa de plástico, ésta se dobla y se coloca debajo de la lengua del paciente a nivel de las carúnculas linguales y se le pide que cierre la boca.
3. Se le indica al paciente que debe adoptar la posición de cochero la cual consiste en que el paciente debe estar sentado con su tronco en posición vertical, la espalda curva y la cabeza inclinada hacia delante ligeramente.
4. Ya en esta posición se le pide al paciente que cierre los ojos y se le indica que permanecerá así durante 5 min que es el tiempo que tarda el procedimiento.
5. Después de transcurridos los 5 min se retira la tira de papel y se observa el nivel hasta donde se humedeció y se registra. En caso de que se la tira se humedeciera por completo antes de los 5 min se registra el tiempo en el que ocurrió.

Los pacientes con niveles de saliva inferiores a 1.5 cm/ml serán considerados con hiposalivación.

Examen intrabucal

El examen intrabucal se realizará siguiendo un orden establecido propuesto por Roed Petersen y Grete Renstrup en 1969 (Roed-Petersen y Renstrup 1969) donde clasifican topográficamente a la mucosa bucal y puede ser utilizado para describir cualquier tipo de lesión. El orden propuesto es el siguiente:

- | | |
|---|--------------------------------------|
| 1. Comisura derecha | 23. Proceso alv. lingual anterior |
| 2. Mucosa yugal derecha | 24. Proceso alv. lingual izquierdo |
| 3. Comisura izquierda | 25. Piso de boca derecho |
| 4. Mucosa yugal izquierda | 26. Piso anterior de boca |
| 5. Mucosa labial superior | 27. Piso de boca izquierdo |
| 6. Mucosa labial inferior | 28. Vientre de lengua lado derecho |
| 7. Surco vestibular superior derecho | 29. Vientre de lengua lado izquierdo |
| 8. Surco labial superior | 30. Borde lateral derecho lengua |
| 9. Surco vestibular superior izquierdo | 31. Borde lateral izquierdo lengua |
| 10. Surco vestibular inferior derecho | 32. Punta de lengua |
| 11. Surco labial inferior | 33. Dorso de lengua derecho |
| 12. Surco vestibular inferior izquierdo | 34. Dorso de lengua izquierdo |
| 13. Proceso alv. bucal superior derecho | 35. Base de lengua |
| 14. Proceso alv. labial superior anterior | 36. Paladar duro derecho |
| 15. Proceso alv. bucal superior izquierdo | 37. Paladar duro izquierdo |
| 16. Proceso alv. bucal inferior derecho | 38. Paladar blando derecho |
| 17. Proceso alv. labial inferior anterior | 39. Paladar blando izquierdo |
| 18. Proceso alv. bucal inferior izquierdo | 40. Pilar amigdalino derecho |
| 19. Proceso alv. palatino derecho | 41. Pilar amigdalino izquierdo |
| 20. Proceso alv. palatino anterior | |
| 21. Proceso alv. palatino izquierdo | |
| 22. Proceso alv. lingual derecho | |



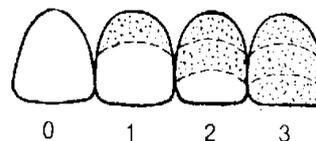
Índice de higiene oral simplificado (IHOS)

Es una modificación que se realizó en 1964 al índice de higiene oral (IHO) creado en 1960 por Greene y Vermillion (Greene y Vermillion 1960). Este índice mide la presencia de placa dentobacteriana y cálculo sobre la superficie de 6 dientes, los dientes y superficies examinadas son el 11, 16, 26 por la cara vestibular y el 31, 36 y 46 por la cara lingual.

Cada superficie dental es dividida horizontalmente en tercios gingival, medio e incisal y la exploración se realiza con ayuda de un espejo bucal y una sonda de la OMS la cual se coloca en el tercio incisal del órgano dentario y se desplaza hacia el tercio gingival y se le asigna un valor de 0-3 de acuerdo a los siguientes criterios:

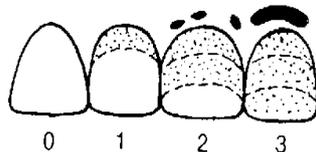
Códigos y criterios para placa dentobacteriana (IHOS)

Código	Criterios
0	No hay placa ni manchas.
1	Residuos blandos que cubren menos de 1/3 de la superficie del diente.
2	Residuos blandos que cubren más de 1/3 pero menos de 2/3 de la superficie del diente.
3	Residuos blandos que cubren más de 2/3 de la superficie del diente.



Códigos y criterios para cálculo dental (IHOS)

Código	Criterios
0	No hay presencia de cálculo supragingival ni subgingival.
1	Cálculo supragingival que cubre menos de 1/3 de la superficie del diente y no hay cálculo subgingival.
2	Cálculo supragingival que cubre menos de 1/3 pero menos de 2/3 de la superficie del diente y/o depósitos únicos o aislados de cálculo subgingival.
3	Cálculo supragingival que cubre más de dos tercios de la superficie dental expuesta y/o una banda gruesa continua de cálculo subgingival alrededor de la parte cervical del diente, o ambos



La calificación de placa se obtiene por persona totalizando la puntuación de los desechos por superficie dental y dividiendo el resultado entre la cantidad de superficies examinadas. Se realiza el mismo procedimiento con el cálculo dental y se suman las dos calificaciones para obtener un promedio de acuerdo a la siguiente escala:

Valor	Criterio
0-1.2	Buena higiene
1.3-3	Higiene regular
3.1-6	Mala higiene

Criterios clínicos de candidosis bucal con VIH/SIDA

El Grupo de Ensayos Clínicos del SIDA (ACTG) el cual establece las normas para la atención del VIH y de las enfermedades oportunistas relacionadas con VIH/SIDA; creó en 2006 a la Alianza de Investigación Oral de VIH/SIDA denominada OHARA (por sus siglas en inglés) con el objetivo de investigar las manifestaciones bucales asociadas a estas entidades. Por tanto, el OHARA en 2009 clasificó estas enfermedades de acuerdo a su origen etiológico y estableció criterios clínicos para su identificación, donde incluye a la candidosis bucal (Shiboski y cols. 2009).

Infeción	Criterios clínicos	Síntomas y duración reportados por el paciente
Candidosis bucal		
Candidosis pseudomembranosa	Placas o manchas blancas de consistencia cremosa que pueden ser desprendidas y dejar un área eritematosa localizadas en cualquier parte de la cavidad bucal	Ningún síntoma o ardor leve o moderado generalmente intermitente aunque puede ser de larga duración.
Candidosis eritematosa	Eritema o áreas rojas que normalmente se encuentra en el paladar y dorso de la lengua o a veces en la mucosa bucal. Pueden estar presentes manchas blancas o placas de candidiasis pseudomembranosa.	Ningún síntoma o ardor leve o moderado generalmente intermitente aunque puede ser de larga duración.
Queilitis angular	Fisuras rojas o blancas o úlceras lineales ubicadas en las comisuras de los labios	Ningún síntoma o posible dolor leve al abrir la boca generalmente intermitente o puede ser de larga duración.

**Criterios microscópicos para diagnóstico
de candidosis bucal mediante frotis citológico**

Si clínicamente se observan criterios compatibles con infección por *Candida* los cuales ya fueron establecidos en el Anexo 8, se tomará una muestra mediante frotis citológico de la zona afectada y se enviará al laboratorio para su análisis microscópico basados en criterios diagnósticos establecidos en la Guía práctica de identificación y diagnóstico en micología clínica en Bilbao 2007 (Quindos G. y cols. 2007).

- Para frotis se puede utilizar tinción de Gram, Giemsa o PAS (ácido periódico de Schiff)
- Se utilizará PAS ya que esta tinción permite apreciar mejor las estructuras fúngicas.
- Mediante la tinción se observan las estructuras de hifas (filamento que puede estar ramificado o no), pseudohifas (ramificación que no se separa de la célula madre, más delgada que la hifa verdadera) o blastosporas (levaduras gemantes) sobre las células epiteliales.
- Si se identifica alguna de las estructuras celulares anteriores el diagnóstico es compatible con infección por *Candida sp.*



HOJA DE RECOLECCIÓN DE RESULTADOS MICROBIOLÓGICOS



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

No. de expediente _____

Número de folio o clave de muestra _____

Cultivo primario y resultados

Medio de cultivo	24 horas	48 horas	72 horas	_____ hrs.
Agar dextrosa Sabouraud				
ChromAgar <i>Candida</i>				
Otro medio: (especificar)				

Describir en el cuadro las características de las colonias: color, tamaño (mm), textura, bordes, halos, etc.

Resiembras

Medio de cultivo: _____

	Número de resiembra				
	1	2	3	4	5
Clave de aislamiento					
Resultado					
Identificación presuntiva					

Anexar los formatos completos de las pruebas bioquímicas realizadas.

Otros resultados	
-------------------------	--