



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA EN *Candida* spp AISLADAS DE MUCOSA ORAL
DE PACIENTES INFECTADOS CON EL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA
HUMANA (VIH) EN CUMANÁ, ESTADO SUCRE
(Modalidad: Tesis de Grado)

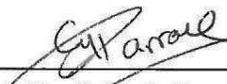
ANDREÍNA DEL VALLE MARCANO SANTOS

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

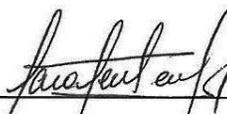
CUMANÁ, 2013

SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA EN *Candida* spp AISLADAS DE MUCOSA ORAL
DE PACIENTES INFECTADOS CON EL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA
HUMANA (VIH) EN CUMANÁ, ESTADO SUCRE.

APROBADO POR:



Profa. Evis Parra
Asesora



Dra. Sara Centeno
Jurado principal



Esp. Josefa Díaz
Jurado principal

INDICE GENERAL

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	II
LISTA DE TABLAS	III
LISTA DE FIGURAS.....	IV
RESUMEN	V
INTRODUCCIÓN	1
METODOLOGÍA	7
Muestra poblacional	7
Toma de muestra	7
Examen directo.....	8
Cultivo.....	8
Identificación de levaduras del género <i>Candida</i>	8
Características morfológicas	8
Producción de color en medio cromogénico (<i>Chromatic Candida</i>).....	9
Pruebas fisiológicas y bioquímicas	9
Determinación de la susceptibilidad a los antifúngicos (azoles)	11
Técnica:	11
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	13
CONCLUSIONES.....	28
RECOMENDACIONES.....	29
BIBLIOGRAFÍA	30
APENDICES	39
ANEXOS	50
HOJA DE METADATOS	52

DEDICATORIA

A

Dios todopoderoso mi guía, mi fortaleza, mi mayor fuente de fe.

A mi Virgen del Valle por acompañarme y guiarme en todo momento.

Mi abuela, por el apoyo incondicional en este largo camino.

Mi padre, quien aun desde el cielo no dejó de gritarme su deseo, su fe, su apoyo para convertirme en la profesional y ser excepcional que hoy soy.

Mi madre, quien a pesar de las adversidades es el mejor ejemplo de lucha, perseverancia, amor y constancia, gracias a ti soy en esta vida lo que quiero ser.

Mi hermano, el mejor ejemplo de humildad, sencillamente, el amor de mi vida.

Mis tíos Luisa, Carlos e Isabel por toda la fe que pusieron en mí, por ser ejemplo de lucha y superación, por el apoyo y el amor de siempre.

Norielis Zabala, María D'Arthenay, Manuel Ramos, y Nizzar Gharzeddine, por acompañarme durante estos años en buenos y malos momentos. Gracias a ustedes conocí el significado de la verdadera amistad.

María Blanco, por ser como una madre durante estos años, por todo el amor.

Mis segundos padres, Nori y Leonardo, y la familia Zabala por todo el cariño y por hacerme parte de ellos.

Mis ángeles de la guarda, por ser mis grandes apoyos y por impulsarme a ser cada día mejor.

AGRADECIMIENTO

A

Evis Parra, por ser una excelente profesora, y una mejor profesional. Gracias, porque a pesar de todas las circunstancias vividas siempre estuvo allí para apoyarme y guiarme.

Jaime Mora, Eduardo Higuerey y Fernando Ortiz por toda la colaboración y el apoyo incondicional en la elaboración de este trabajo.

Todo el personal de la consulta de medicina interna, y al Sr. Francisco del departamento de estadística del HUAPA, por su buena disposición y brindarme toda la ayuda necesaria.

Todos los profesores y personas que de una u otra forma cooperaron a lo largo de esta carrera para lograr esta maravillosa meta.

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Distribución porcentual de especies de <i>Candida</i> identificadas mediante métodos convencionales, aisladas de mucosa oral de pacientes infectados con VIH provenientes de la consulta de medicina de interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” en Cumaná, estado Sucre. Enero- abril de 2011.....	14
Tabla 2. Perfil fenotípico expresado en 69 cepas aisladas de mucosa oral de pacientes infectados con VIH provenientes de la consulta de medicina interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” en Cumaná, estado Sucre. Enero – abril 2011.	16
Tabla 3. Sensibilidad a fluconazol, itraconazol y voriconazol, utilizando el método de difusión en agar en cepas de <i>C. albicans</i> , <i>C. dubliniensis</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. tropicalis</i> y <i>C. parapsilosis</i> , provenientes de mucosa oral de pacientes infectados con VIH que asistieron a la consulta de medicina interna del Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá, en Cumaná, estado Sucre. Enero – abril 2011.....	20
Tabla 4. Asociación entre la resistencia a azoles de las especies de <i>Candida</i> aisladas con las variables clínicas y demográficas de los pacientes infectados con VIH que asistieron a la consulta de medicina interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Enero - abril 2011.....	25
Tabla 5. Asociación de los niveles de linfocitos T CD4 ⁺ y la carga viral con la presencia de candidiasis en pacientes infectados con VIH que asistieron a la consulta de medicina interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, en Cumaná, edo. Sucre. Enero - abril 2011.....	27

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Frecuencia de cultivos positivos para <i>Candida</i> spp en muestras de mucosa oral de pacientes infectados con VIH provenientes de la consulta de medicina interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, en Cumaná, estado Sucre. Enero - abril de 2011.	13
---	----

RESUMEN

Se evaluó la prevalencia y susceptibilidad antifúngica *in vitro* de especies de *Candida* aisladas de mucosa oral de 86 pacientes infectados con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) de ambos sexos, con edades comprendidas entre 19 y 49 años que asistieron a la consulta de medicina interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de Cumaná, estado Sucre. Se aislaron 69 levaduras entre los meses enero y abril 2011. La especie aislada con mayor frecuencia fue *C. albicans* (69,59%), otras especies no *albicans* fueron aisladas en menor porcentaje: *C. dubliniensis* (8,69%), *C. lusitaniae* (7,25%), *C. krusei* (7,25%), *C. tropicalis* (5,80%) y *C. parapsilosis* (1,45%). Fluconazol, itraconazol y voriconazol fueron los antifúngicos ensayados mediante el método de difusión en agar propuesto por el Comité Internacional de Estándares de Laboratorio Clínico (CLSI). La mayor resistencia a fluconazol estuvo constituida por especies no *albicans* (24,63%), por otro lado la mayor resistencia tanto a itraconazol (31,88%) como a voriconazol (52,17%) fueron de cepas identificadas como *C. albicans*. El 40,00% de las cepas de *C. albicans* provenientes de pacientes con tratamiento antimicótico fueron resistentes al fluconazol (resistencia secundaria). De acuerdo a estos resultados se puede concluir que fluconazol sigue siendo el antimicótico más eficaz contra *C. albicans*, mientras voriconazol para *Candida* no *albicans*. Igualmente, demuestran la importancia del aislamiento y la identificación de las especies de *Candida*, así como las pruebas de susceptibilidad *in vitro* para implementar un tratamiento adecuado en este grupo de pacientes.

INTRODUCCIÓN

La candidiasis es una micosis ocasionada por levaduras del género *Candida*, estos microorganismos son hongos inocuos, dimórficos, forman parte de la flora habitual de la boca, orofaringe, intestino, vagina y piel del individuo sano; es decir, son saprofitos, pero cuando la eficacia del sistema inmunitario (primario o secundario) del hospedero se reduce por el aumento de la presencia de las toxinas del hongo, esto puede causar desórdenes superficiales como candidiasis oral y cutánea para el individuo en cuestión (Casas, 1994; Gorther, 1996; Flores 1998; López-Ribot *et al.*, 2000; Mendoza y Díaz, 2001).

Las candidiasis orales fueron subdivididas por Lehner en 1966, en base a su persistencia, en agudas y crónicas, años más tarde, fueron consideradas las siguientes formas clínicas de candidiasis oral: candidiasis pseudomembranosa (aguda-crónica), candidiasis eritematosa (aguda-crónica), candidiasis hiperplásica (leucoplásica), lesiones asociadas, (estomatitis protésica, queilitis angular, glositis rómbica, queilitis exfoliativa), candidiasis mucocutáneas (crónicas). Cuando dos o más de estas formas clínicas aparecen juntas se le denomina candidiasis oral multifocal. *Candida* spp puede estar también implicada en el eritema gingival lineal, la periodontitis necrótica y la queilitis exfoliativa, procesos descritos en la enfermedad por virus de inmunodeficiencia humana (VIH) (Aguirre, 2002).

La forma pseudomembranosa o “muguet” es la presentación clínica mejor conocida. Aunque, otras formas clínicas como la candidiasis eritematosa o la queilitis angular son más frecuentes. La prevalencia de estas formas de candidiasis oral no se conoce bien, ya que, en muchos casos, pasan desapercibidas para el clínico. Sin embargo, el diagnóstico es muy importante ya que pueden ser la primera manifestación de una alteración sistémica, entre las cuales está incluida la infección por VIH. En los pacientes infectados por VIH parece existir una progresión clínica en las candidiasis, desde formas clínicas

leves iniciales a formas más graves y tardías. Esta progresión puede estar relacionada con la evolución de la inmunosupresión, el número de linfocitos T CD4⁺ y la carga viral (Pankhurst, 2009).

Las candidiasis son las infecciones micóticas más frecuentes, constituyendo la afectación oral por *Candida* spp la primera forma clínica descrita históricamente. Las afecciones producidas por levaduras se han incrementado en los últimos años, afectando en un 30,00-40,00% de la población; generando así, una elevada tasa de morbilidad y mortalidad en aquellos pacientes con factores de riesgo para adquirirlos, como son los casos de pacientes que presentan: inmunodeficiencias primarias o adquiridas, tratamientos con antibióticos de amplio espectro, fármacos antineoplásicos e inmunosupresores, trasplantes de órganos sólidos y médula ósea, alimentación parenteral, empleo de catéteres intravenosos, procedimientos para aumentar la supervivencia de neonatos pretérmino y la prolongada permanencia en unidades de cuidados intensivos (UCI), entre otras causas (Aguirre, 2002; Godoy *et al.*, 2003; Mendoza, 2005; Mesa *et al.*, 2005; Sánchez, 2006; Zaragoza y Pemán, 2006; Duarte *et al.*, 2009; Alfonso *et al.*, 2010).

Se conocen más de 150 especies de *Candida*, de las cuales sólo unas pocas son consideradas patógenas, reportándose a *C. albicans* como la principal especie responsable de candidiasis, seguido de *C. tropicalis*, sin embargo, otros miembros de este género también se han reportado como agentes productores de infecciones, tales como *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. krusei*, *C. zeylanoides*, *C. ciferri*, *C. glabrata*, *C. dubliniensis*, entre otros (Flores, 1998; Aguirre, 2002; Lusvarghi *et al.*, 2008).

En Europa, Norteamérica y Australia, *C. albicans* representa entre el 60,00 y 80,00% de las levaduras aisladas de la cavidad oral de las personas sanas. En México, la prevalencia de la candidiasis oral reportada, en los pacientes infectados por el VIH, es de 31,06%, mientras que en Brasil es del 45,00%, de los cuales el 72,00% de los

aislamientos corresponden a *C. albicans* (Sánchez, 2006; Delgado *et al.*, 2009).

La candidiasis oral es la infección por hongos oportunistas más frecuente entre los pacientes infectados por VIH y se ha estimado que más del 90,00%, de estos pacientes, a menudo desarrollan candidiasis en algún momento de la enfermedad (Aguirre, 2002; De Repentigny *et al.*, 2004; Delgado *et al.*, 2009).

Estudios realizados en la Universidad de Indonesia, en pacientes infectados por VIH, demostraron que el 70,00% de los casos presentaban signos y síntomas orales de candidiasis mucosa, siendo la placa blanca desigual en la membrana oral, el aspecto más característico. Otro estudio clínico realizado en la universidad de Texas en Estados Unidos, mostró que en pacientes con altas cargas de ácido ribonucleico (ARN) de VIH, la colonización oral por levaduras fue extensa y se produjo en el 81,01% de estos pacientes, mientras que en Brasil la tasa de colonización oral por *Candida* spp en estos individuos representa el 62,06% (Nelwan y Wisaksana, 2010; Thompson *et al.*, 2010).

La infección por VIH se caracteriza por provocar una reducción paulatina y progresiva del número de linfocitos T CD4⁺, hasta llegar a su total depleción, lo que contribuye a la aparición de infecciones oportunistas en estos pacientes (Ceballos *et al.*, 1998; Lusvarghi *et al.*, 2008).

La prevalencia de candidiasis con localización es específica (por ejemplo, orofaríngea, vaginal o esofágica) puede ser variable dependiendo del estado inmunitario del paciente, siendo más común en pacientes inmunosuprimidos, el riesgo de contraerla se considera más alto en pacientes con un conteo de linfocitos T CD4⁺ menor de 200 células por mm³ y altas cargas de ARN de VIH (Fidel, 1999; Sánchez, 2005; Thompson *et al.*, 2010).

Un estudio realizado en Brasil demostró que las colonizaciones por *Candida* spp a nivel orofaríngeo fueron superiores (58,05%) en aquellos pacientes con carga viral de ARN de VIH significativamente alta y número promedio de linfocitos T CD4⁺

significativamente bajo. En China demostraron que la candidiasis pseudomembranosa fue predominante en pacientes infectados por VIH con un conteo de linfocitos T CD4⁺ inferior a 200 células por mm³ (66,07%) (Liu *et al.*, 2006; Delgado *et al.*, 2009).

Algunos trabajos llevados a cabo experimentalmente con ratones infectados e inmunodeficientes, han proporcionado una base para comprender el papel fundamental de las células T CD4⁺ y T CD8⁺, macrófagos y leucocitos polimorfonucleares (PMN), en la defensa del hospedero contra candidiasis mucosa, indicando que la protección, contra la candidiasis mucosa, implica la contratación y colaboración interactiva de varias poblaciones celulares. Por lo tanto, es evidente que múltiples, en lugar de individuales, defectos en los mecanismos de defensa del hospedero son la base potencial de candidiasis mucosa en la infección por VIH (De Repentigny *et al.*, 2004).

Antes de la disponibilidad de la terapia antirretroviral altamente activa, la candidiasis orofaríngea fue un hallazgo muy común en pacientes infectados con VIH. Con el desarrollo de medicamentos antirretrovirales eficaces, las tasas de colonización por *Candida* spp decrecieron en gran medida (Thompson *et al.*, 2010).

En los últimos años, se han incorporado los fármacos inhibidores de la proteasa del VIH al arsenal terapéutico frente al síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), éstos han mostrado resultados prometedores en el control clínico de la enfermedad, abriendo una nueva perspectiva en los esfuerzos realizados para mejorar las condiciones de estos pacientes. Algunos investigadores atribuyen esta mejora al aumento en el número de linfocitos T CD4⁺ y una reducción de la carga viral, que restaura la inmunidad de dichos pacientes, lo que ha reducido el predominio de las infecciones oportunistas, incluyendo candidiasis oral (Ceballos *et al.*, 1998; Sánchez, 2005; Lusvarghi *et al.*, 2008).

Debido al incremento en la prevalencia de las micosis, se ha hecho necesario desarrollar sustancias antifúngicas para tratar estas infecciones (polienos, fluorocitina, triazoles, equinocandinas, sordarinas y azoles de última generación). Con el desarrollo de los

triazoles, específicamente fluconazol e itraconazol, se inició la profilaxis antifúngica y la terapia empírica en pacientes inmunosuprimidos con sospecha clínica de micosis; trayendo como consecuencia, cambios epidemiológicos, como la aparición de cepas con resistencia secundaria a los antifúngicos y la sustitución de especies sensibles por otras con resistencia intrínseca. Por tanto, los estudios de sensibilidad *in vitro* a los antifúngicos se hacen cada vez más necesarios a fin de conocer su actividad y predecir el éxito o el fracaso del tratamiento, así como también conocer otras alternativas de tratamientos (Zaragoza y Pemán, 2006).

Ciertos regímenes de tratamiento con antifúngicos han tenido un impacto significativo en el desarrollo de la resistencia. El uso de cursos repetidos o de bajas dosis de ciertos antifúngicos como el fluconazol han contribuido al desarrollo de resistencia de levaduras como *C. albicans*, *C. krusei*, *C. glabrata* (Thompson *et al.*, 2010).

La aparición de aislamientos resistentes a diversos antifúngicos obliga a una identificación presuntiva rápida de estos microorganismos para poder instaurar el tratamiento antimicótico adecuado. El empleo de diferentes medios de cultivo con sustratos cromogénicos ha demostrado su indudable valor como herramienta para el diagnóstico presuntivo de levaduras, a la vez que ha permitido reconocer la presencia simultánea de dos o más especies en una misma muestra clínica (Alfonso *et al.*, 2010).

Según estudios realizados en el Instituto Dental Santo Thomas en Londres, se ha observado un incremento de las infecciones orales ocasionadas por levaduras, afectando mayormente a pacientes infectados con VIH, igualmente, estudios realizados en Caracas en la Universidad Central de Venezuela (UCV), han demostrado que la candidiasis bucal constituye una de las patologías con mayor frecuencia en estos pacientes (Tovar *et al.*, 2004; Pankhurst, 2009).

Sin embargo, son pocos los estudios realizados que permitan conocer la frecuencia de esta enfermedad en nuestra región, específicamente en el estado Sucre, así mismo las

pruebas de susceptibilidad *in vitro* a antifúngicos de especies de *Candida* no se realizan de manera rutinaria, por lo cual resulta difícil establecer un tratamiento antimicótico adecuado (Pankhurst, 2009). Teniendo en cuenta estas dificultades y el problema de salud pública que ocasiona, se realizó el siguiente trabajo de investigación, cuyo objetivo fue evaluar la prevalencia y susceptibilidad *in vitro* a los antifúngicos en especies de *Candida* aisladas de mucosa oral en pacientes infectados con VIH, que asistieron a la consulta de medicina interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” (HUAPA) de Cumaná, estado Sucre.

METODOLOGÍA

Muestra poblacional

La muestra poblacional estuvo representada por secreciones orales de 86 pacientes, de edades comprendidas entre 19 y 49 años, de ambos sexos, ambulatorios, con diagnóstico de infección por VIH, que acudieron a la consulta de medicina interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de la ciudad de Cumaná, estado Sucre, durante el periodo enero – abril 2011.

A cada paciente se le realizó una encuesta epidemiológica y clínica (apéndice 1) y se le solicitó un consentimiento (apéndices 2 y 3), siguiendo los lineamientos establecidos en la declaración de Helsinki, entre los cuales destacan: este trabajo de investigación estuvo sólo a cargo de personas con la debida preparación científica y bajo vigilancia de profesionales de la salud, por otra parte, se respetó el derecho de cada individuo participante en la investigación a fin de salvaguardar su integridad personal y se adoptaron las precauciones necesarias para respetar la intimidad, integridad física y mental del sujeto (OPS, 2000).

Toma de muestra

Para la toma de muestras se le indicó al paciente que inclinara la cabeza hacia atrás y que abriera la boca; luego, con la ayuda de un depresor lingual, se bajó la lengua para reducir al mínimo la contaminación del hisopo con secreciones bucales. Posteriormente, se introdujo un hisopo, humedecido con solución salina fisiológica estéril (SSFE) en la cavidad, se tomaron muestras de lesiones representativas de candidiasis como: grumos o placas blanco-amarillentas de consistencia blanda o gelatinosa, que al ser raspadas se desprendían fácilmente, áreas rojizas de bordes mal definidos y nódulos blanquecinos, presentes en la parte baja de la boca, la superficie dorsal de la lengua y áreas

retrocomisurales. Una vez recogida la muestra se colocó en tubos de ensayo estériles con SSFE (Delgado *et al.*, 2000; Aguirre, 2002).

Examen directo

Una vez tomada la muestra, se procedió a realizar examen en fresco con SSFE y un frotis para tinción de Gram, para observar la presencia de: blastosconidias (cantidad, morfología y tamaño), número de gemaciones, pseudohifas o hifas y tipo de células presentes (células epiteliales, leucocitos, macrófagos, entre otros) (apéndice 5.1).

Se utilizó la coloración Gram para la identificación de blastosconidias y pseudomicelios de las especies del género *Candida* (apéndice 5.2); las cuales son Gram positivas con variaciones en la intensidad de la coloración (Murray *et al.*, 2003).

Cultivo

Las muestras se sembraron por duplicado en agar Sabouraud dextrosa (ASD) con antibiótico (cloranfenicol al 1,00%), para inhibir el crecimiento de flora bacteriana contaminante. Posteriormente, fueron incubadas a 37°C durante un período de 48 horas (Koneman *et al.*, 1999).

Identificación de levaduras del género *Candida*

Características morfológicas

Se tomaron en cuenta las características macroscópicas de las colonias como el aspecto, tamaño y color (circulares, lisas, blancas, cremosas, de bordes precisos y centro ligeramente prominente) característico de levaduras del género *Candida* (apéndice 5.3). Microscópicamente, se observó la disposición de las blastosconidias y formación de

pseudomicelio, característicos para cada especie de *Candida* en medio sólido. Para ello, se usó el método de Dalmau, que consistió en sembrar por estrías, una porción de la colonia aislada, en placas con el medio corn meal agar (CMA) y se le colocó encima una laminilla estéril; posteriormente, se incubaron a 28°C por 48 horas (apéndice 6.1) y luego se observó en el microscopio con objetivo de 40X la morfología característica para cada especie (Kurtzman y Fell, 1998).

Producción de color en medio cromogénico (Chromatic *Candida*)

Esta prueba se aplicó a aquellas colonias que reunían características levaduriformes desde el punto de vista morfológico. Para ello, se empleó el medio de Chromatic *Candida*, la siembra se realizó según técnicas convencionales y se incubó a 37°C durante 48 horas, para que las levaduras desarrollaran el color que las caracteriza. El fundamento se basó en la detección de actividades enzimáticas por parte de las levaduras mediante la hidrólisis específica de un substrato cromogénico en presencia de un indicador. Se pudieron identificar tres (3) especies con una alta confiabilidad por el color de la colonia. *C. tropicalis* produce colonias lisas, cremosas de color azul intenso o colonias verde azuladas oscuras y ambas con tono metálico; *C. krusei* produce colonias de color rosa pálido, de aspecto veloso o ligeramente aterciopelado, opaco o seco y de superficie plana; *C. albicans* (igual que *C. dubliniensis*) produce colonias de color verde esmeralda, brillantes, lisas y cremosas (Koehler *et al.*, 1999; Alfonso *et al.*, 2010). El color de las demás especies varió entre crema y violeta (apéndice 7.1).

Pruebas fisiológicas y bioquímicas

Las colonias identificadas, presuntamente, por la producción de color en medio cromogénico fueron sometidas a diferentes pruebas fisiológicas y bioquímicas tales como: producción de tubo germinal, fermentación de azúcares (zimograma) y desarrollo en cloruro de sodio al 6,50%, que permitieron llegar a la identificación definitiva de la especie.

Producción de tubo germinal o filamentación en suero: se colocó una pequeña porción de una colonia de la levadura, obtenida de un cultivo de 24 horas, en un tubo con 0,50 ml de suero humano y se incubó a 37°C por 2 horas. Transcurrido este tiempo, se colocó una gota de la suspensión entre lámina y laminilla y se observó al microscopio (40X). Esta prueba es positiva para *C. albicans* y *C. dubliniensis*, las cuales producen un tubo fino y continuo, sin constricción en el lugar de origen (apéndice 7.2) (Cuétara *et al.*, 2006).

Fermentación de azúcares (zimograma): se fundamenta en la propiedad que tienen las levaduras de utilizar los azúcares en anaerobiosis, lo cual se evidenció por la producción de gas. Para esta prueba se utilizaron los siguientes azúcares: glucosa, maltosa, sacarosa, galactosa y lactosa en concentración al 2,00% y rafinosa al 4,00%, los cuales se prepararon en medio basal extracto de malta al 1,00%. La formación de dióxido de carbono (CO₂) se detectó incorporando al medio líquido un tubo de Durham invertido. Para inocular las cepas, se preparó una suspensión de la levadura aislada (patrón N°4 McFarland); luego, se añadieron tres gotas de esta suspensión a los tubos que contenían los azúcares antes mencionados con el tubo de Durham invertido, se agitaron suavemente e incubaron a 28°C por 21 días. Se consideró positiva la prueba de fermentación, cuando se observó formación de CO₂ dentro del tubo de Durham invertido (apéndice 7.1). La observación se realizó diariamente, debido a que el gas se reabsorbe (Lasker *et al.*, 2001). Los resultados se interpretaron según tabla de identificación de levaduras (anexo 1).

Prueba de crecimiento en cloruro de sodio (NaCl) al 6,50%: se preparó una suspensión de la levadura sospechosa a 0,50 McFarland y se agregaron 25 µl de esta suspensión a un tubo de ensayo con 1 ml de NaCl al 6,50% y una gota de extracto de levadura al 10,00%; posteriormente, se incubó el tubo a 37°C por un máximo de 72 horas. Al término de este tiempo, las cepas de *C. albicans* produjeron turbidez y crecimiento en el tubo; por el contrario, las otras especies de *Candida* no crecieron ni produjeron turbidez

en NaCl al 6,50%. Esta prueba se utilizó para diferenciar *C. albicans* de *C. dubliniensis* (Hartz *et al.*, 2002).

Determinación de la susceptibilidad a los antifúngicos (azoles)

Método de difusión en agar con discos de antifúngicos (antifungigrama): este método se realizó siguiendo los lineamientos establecidos por el Comité Internacional de Estándares de Laboratorio Clínico (CLSI), 2008, en su documento M44-A, para la determinación de susceptibilidad de hongos levaduriformes a los antifúngicos.

Técnica:

A partir de un cultivo de 24 horas a 35°C en ASD, se preparó un inóculo de turbidez 0,50 McFarland en SSFE (siguiendo las indicaciones establecidas en el documento M 44-A, para un estricto control de calidad). Para el método de difusión, se utilizaron placas de Petri de 10 cm de diámetro, con 25 ml de agar Mueller-Hinton modificado (MHm), adicionado con 2,00% de glucosa y al cual se le agregó azul de metileno, hasta concentración final de 0,50 mg/ml.

La superficie de cada placa de Petri con agar MHm se diseminó, en tres direcciones, con un hisopo cargado con el inóculo correspondiente; posteriormente, se dejó secar durante 10 a 15 minutos a 37°C. Se colocó un disco de fluconazol (25 µg), uno de voriconazol (1 µg) y uno de itraconazol en cada placa y se incubaron durante 48 horas a 37°C. La prueba se realizó por duplicado. Finalmente, se midió el diámetro del halo de inhibición del crecimiento y se catalogó como sensible o resistente, empleando los puntos de cortes para levaduras recomendados por el CLSI (2008).

Para el control de calidad, se utilizaron las cepas de referencia de la American Type Culture Collection (ATCC): *C. parapsilosis* ATCC 22019 y *C. krusei* ATCC 6258,

donadas por el Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”, Caracas, Venezuela.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante la aplicación de estadísticas descriptivas y representados en tablas y figuras. Para comparar los diferentes patrones de susceptibilidad *in vitro* a antifúngicos de especies de *Candida*, en pacientes infectados con VIH, se aplicó la prueba estadística de Chi-cuadrado con corrección de Yates, en un 95,0% de confiabilidad (Jiménez, 2000). El análisis de los datos se llevó a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS, versión 15,0 para Windows (SPSS Inc., Chicago IL, USA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se analizaron un total de 86 muestras de secreciones orales, obtenidas de pacientes con edades comprendidas entre 19 y 49 años de edad, 55 correspondieron al sexo masculino y 31 al sexo femenino, provenientes de la consulta de medicina interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” durante los meses enero – abril 2011. Del total de muestras procesadas, se obtuvieron 45 (52,32%) cultivos positivos para levaduras del género *Candida* (figura 1). Estos resultados son similares a los reportados por Junqueira *et al.* (2012) en Brasil, quienes obtuvieron 40 (66,66%) cultivos positivos de levaduras en mucosa oral a partir de 60 pacientes infectados con el VIH. Igualmente, Nweze y Ogbonnaya (2011) en Nigeria y Wu *et al.* (2012) en Taiwan encontraron un 60,00 y 59,00% respectivamente, de pacientes colonizados por especies de *Candida* en un total de 200 infectados con VIH; sin embargo, Patel *et al.* (2006) y Katirae *et al.* (2010) encontraron una incidencia mucho mayor (81,30 y 77,30% respectivamente) de cultivos positivos para levaduras del género *Candida* en aislados orales de pacientes infectados con VIH.

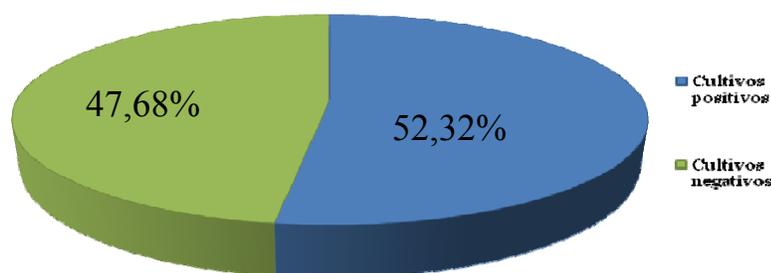


Figura 1. Frecuencia de cultivos positivos para *Candida* spp en muestras de mucosa oral de pacientes infectados con VIH provenientes de la consulta de medicina interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, en Cumaná, estado Sucre. Enero - abril de 2011.

De los cultivos positivos para *Candida* spp se aislaron diferentes especies identificadas fenotípicamente mediante pruebas convencionales rápidas aplicadas en el laboratorio, tales como: formación de tubo germinal, morfología característica (técnica de Dalmau) y producción de color en agar Chromatic *Candida*, según la especie. Las cepas aisladas fueron en su mayoría identificadas como *C. albicans* (69,56%) seguida de *C. dubliniensis* 6 (8,69%), lo cual se muestra en la tabla 1. Estos resultados son similares a los reportados por Sanabria *et al.* (2006) en Paraguay, quienes aislaron un 58,00% de *C. albicans* en mucosa oral de pacientes infectados con el VIH y a los descritos por Baradkar y Kumar (2009) y Arora *et al.* (2009) en la India, quienes obtuvieron un mayor porcentaje de aislamientos de *C. albicans* (70,00 y 75,00%, respectivamente), en 120 pacientes infectados con el VIH; sin embargo, Arias *et al.* (2007) y Hamza *et al.* (2008) encontraron una prevalencia casi absoluta (93,00%) de *C. albicans* en aislados orales de pacientes infectados con VIH.

Tabla 1. Distribución porcentual de especies de *Candida* identificadas mediante métodos convencionales, aisladas de mucosa oral de pacientes infectados con VIH provenientes de la consulta de medicina de interna del Hospital Universitario "Antonio Patricio de Alcalá" en Cumaná, estado Sucre. Enero- abril de 2011.

Especie	N	%
<i>C. albicans</i>	48	69,56
<i>C. dubliniensis</i> *	6	8,69
<i>C. krusei</i>	5	7,25
<i>C. lusitaniae</i>	5	7,25
<i>C. tropicalis</i>	4	5,80
<i>C. parapsilosis</i>	1	1,45
Total	69	100

N: Número de cepas; %: porcentaje; *: cepas confirmadas molecularmente en el trabajo de grado de Higuerey y Ortiz (2011).

La mayoría de las candidiasis orales son producidas por *C. albicans*, sin embargo, Mendoza (2005) describió aumentos en la frecuencia de especies no *albicans* en los aislados orales de pacientes infectados con el VIH; Maninder y Usha (2007) encontraron un 29,50% de aislamientos no *albicans* en estos pacientes, así mismo, Sanabria *et al.*

(2006) obtuvieron un 42,00% de especies no *albicans* en un estudio realizado a 310 pacientes infectados con VIH en Paraguay. En el presente estudio, se obtuvo un 30,44% de cultivos positivos para especies no *albicans*, distribuidos de la siguiente manera: *C. dubliniensis* (8,69%), *C. lusitaniae* (7,24%), *C. krusei* (7,24%), *C. tropicalis* (5,79%) y *C. parapsilosis* (1,49%).

Muchos investigadores han descrito aislamientos atípicos de *C. albicans* en pacientes infectados por el VIH, entre ellos, Sullivan *et al.* (1997), observaron que muchos de estos aislamientos mostraban una serie de características fenotípicas (hiperproducción de clamidosporas, serotipo A, crecimiento a 42°C, entre otros) y genotípicas comunes, con las suficientes diferencias del resto de los aislamientos clínicos típicos de *C. albicans* como para formar una especie distinta, *C. dubliniensis*. Esta especie se ha descrito principalmente, en aislamientos orales de personas infectadas por el VIH y con candidiasis oral, pero también se ha observado, aunque en menor medida, en aislamientos orales de personas sanas (Hartung *et al.*, 2005).

C. dubliniensis se ha aislado, entre un 14,40% a un 26,30% en muestras de la cavidad oral de personas infectadas con VIH (Mata *et al.*, 2002; Blignaut, 2007). En el presente trabajo se muestra una incidencia mucho menor, con un total de 8,69% de los aislados; sin embargo, fue la segunda especie en frecuencia. Resultados similares fueron encontrados por Ceballos *et al.* (1998) en España, con un 8,00% de cepas de *C. dubliniensis* aisladas en 86 pacientes infectados con el VIH y por Thompson *et al.* (2010) en los Estados Unidos, con un 9,70% de aislados de *C. dubliniensis* en 122 pacientes infectados con VIH.

Otras especies aisladas en esta investigación fueron *C. lusitaniae* y *C. krusei*, ambas con el mismo porcentaje (7,24%), en concordancia con estos resultados, Melo *et al.* (2004), en Brasil, encontraron un 5,20 y 7,50% de aislados de *C. lusitaniae* y *C. krusei*, respectivamente. Por el contrario, otros investigadores como Delgado *et al.* (2009),

Hamza *et al.* (2008) y Sanabria *et al.* (2006) han hallado porcentajes de aislamientos mucho menores para estas especies, que van desde un 0,70% hasta un 3,40%.

Las asociaciones entre especies diferentes de *Candida* no son infrecuentes, aunque se observan más comúnmente en muestras orales de personas sanas sin candidiasis (Ceballos *et al.*, 1998). En este estudio, 4 de los 45 pacientes con candidiasis presentaron dos especies diferentes de *Candida*. Resultados similares fueron hallados por Gutiérrez *et al.* (2007) con 6 pacientes colonizados por diferentes especies de manera simultánea. El aislamiento de especies diferentes a *C. albicans* en las muestras orales puede ser consecuencia de la selección impuesta por la terapia antifúngica empleada, habitualmente con el uso de antifúngicos azólicos como el fluconazol. Las especies con resistencia innata y adquirida al fluconazol como *C. krusei* o *C. glabrata* se seleccionarían por esta presión antifúngica (López *et al.*, 2005; Mendoza, 2005).

Para llegar a una identificación presuntiva de las especies de *Candida*, se establecieron 9 grupos fenotípicos, los cuales están representados en la tabla 2, basados en la producción de color en agar Chromatic *Candida*, formación de tubo germinal, fermentación de carbohidratos y desarrollo en NaCl al 6,50%.

Tabla 2. Perfil fenotípico expresado en 69 cepas aisladas de mucosa oral de pacientes infectados con VIH provenientes de la consulta de medicina interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” en Cumaná, estado Sucre. Enero – abril 2011.

Grupo	N	ACC	TG	NaCl 6,50%	Zimograma						Especie Presuntiva
					G	Ga	S	L	M	R	
I	36	Verde cremosa	+	+	+	-	-	-	+	-	<i>C. albicans</i>
II	12	Verde cremosa	+	+	+	+	-	-	+	-	<i>C. albicans</i>
III	4	Verde cremosa	+	-	+	-	-	-	+	-	<i>C. dubliniensis</i>
IV	2	Verde cremosa	+	-	+	+	-	-	+	-	<i>C. dubliniensis</i>
V	4	Violeta seca	-	-	+	+	+	-	+	-	<i>C. lusitaniae</i>
VI	1	Violeta seca	-	-	+	-	+	-	+	-	<i>C. lusitaniae</i>
VII	5	Rosa seca	-	-	+	-	-	-	-	-	<i>C. krusei</i>
VIII	4	Azul cremosa	-	-	+	+	+	-	+	-	<i>C. tropicalis</i>
IX	1	Beige cremosa	-	-	+	+	-	-	-	-	<i>C. parapsilosis</i>

N: número de cepas; ACC: agar chromatic *Candida*; TG: tubo germinativo; G: glucosa; Ga: galactosa; S: sacarosa; L: lactosa; M: maltosa; R: rafinosa.

Las cepas identificadas como presuntivas *C. dubliniensis*, fueron confirmadas mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en el trabajo de grado realizado por Higuerey y Ortiz (2011).

La identificación de las especies de *Candida* a partir de muestras clínicas requiere de una serie de estrategias de aislamiento, así como de la aplicación de técnicas convencionales basadas en métodos fisiológicos y bioquímicos por parte del laboratorio clínico, como lo son: agar cromogénico, formación de tubo germinativo, disposición de blastoconidias en CMA, zimograma, desarrollo en NaCl al 6,50%, entre otras (Quindós *et al.*, 2001; Sullivan *et al.*, 2004). Todos los aislamientos clínicos fueron identificados usando cada uno de los métodos de identificación antes mencionados.

Las características morfológicas macro y microscópicas de las colonias aisladas (apéndice 4.3 y 5.1), permitió una orientación sobre la especie presuntiva, pero no se pueden tomar como base de una identificación definitiva, debido a la semejanza, en algunos casos, de las mencionadas características entre distintas cepas, por lo que se hace necesaria la aplicación de otras técnicas para llegar a la identificación de las especies.

Dentro de los métodos de identificación utilizados estuvo el agar cromogénico (Chromatic *Candida*), utilizado para la caracterización presuntiva de las especies. El uso de medios con sustratos cromogénicos ha sido un gran avance en la identificación temprana de distintas especies de levaduras, así como también ha permitido el reconocimiento de más de una especie en una misma muestra clínica capaz de causar infecciones de manera simultánea; sin embargo, las colonias se presentan en una gama de colores determinados y la caracterización de los mismos es altamente subjetiva, ya que depende del observador. Por esta razón, no siempre resulta sencillo diferenciar entre variaciones de tonalidades de un color, para determinar exclusivamente con esto, la correspondencia con la especie aislada.

Algunos autores señalan que *C. albicans* produce colonias verde cremosa, *C. tropicalis* azul cremosa y *C. krusei* rosa seca; así mismo, otras especies de *Candida* se presentan en matices que van desde el marfil al violeta (Ballesté *et al.*, 2005; López *et al.*, 2005; Alfonso *et al.*, 2010; Lobáina, 2010; Madhavan *et al.*, 2011). Los resultados obtenidos en esta investigación, concuerdan con lo antes descrito en cuanto a las tonalidades de colores según la especie, puesto que se lograron identificar, sin problema alguno, *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei*, presentándose dificultades sólo en la identificación de especies como *C. lusitaniae* y *C. parapsilosis*, donde se tomó el criterio de marfil a violeta, encontrándose una amplia variación entre estos colores. Estos resultados coinciden con los obtenidos por Hospenthal *et al.* (2006), quienes observaron que las colonias de estas especies mostraron una gran diversificación entre tonos violeta, rosa y marfil. En el caso de *C. krusei* la condición de seca y bordes rugosos ayudó en la caracterización presuntiva por este medio. Algunos autores señalan que *C. dubliniensis* produce colonias de color verde más oscuro que *C. albicans* (Kirkpatrick *et al.*, 1998; Freydiere *et al.*, 2001; Ellepola *et al.*, 2003); no obstante, otros estudios han señalado que no siempre se evidencia la divergencia de color y que basarse únicamente en este aspecto puede causar confusión (Ballesté *et al.*, 2005; López *et al.*, 2005; Hospenthal *et al.*, 2006; Sahand *et al.*, 2009). En esta investigación, los aislamientos mencionados anteriormente, no mostraron diferencias en la tonalidad que permitieran diferenciar unas de otras.

En cuanto a la prueba de formación de tubo germinativo, fue aplicada a aquellas cepas presuntivas de *C. albicans* (54) en agar cromogénico, lo que permitió identificar estos aislamientos, más no así inferir sobre la identidad de las demás especies; estos resultados coinciden con López *et al.* (2005) quienes obtuvieron producción de tubo germinal en la totalidad de las cepas posteriormente identificadas como *C. albicans*. Cabe destacar que, *C. dubliniensis* también es capaz de producir tubo germinal, por lo que esta prueba por sí sola no permitió llegar a la diferenciación de las mismas.

Para la diferenciación entre *C. albicans* y *C. dubliniensis* se utilizó la prueba de

desarrollo en NaCl al 6,50%, observándose que 6 de las cepas, que previamente fueron identificadas como *C. albicans* no tuvieron crecimiento en este medio, lo que permitió inferir que estas pertenecían a la especie *C. dubliniensis*, las 48 cepas restantes se desarrollaron en NaCl al 6,50%, por lo tanto fueron caracterizadas como *C. albicans*. Esta prueba se ha aplicado en pocos estudios, sin embargo, estudios realizados por Alves *et al.* (2002), y Al-Sweih *et al.* (2005), demostraron que *C. dubliniensis* no es capaz de crecer en presencia de NaCl al 6,50%. Por otro lado, Álvarez *et al.* (2009), utilizaron el medio ASD y añadieron una cantidad en gramos de la sal, obteniendo una concentración de NaCl al 6,50%, sembraron 7 cepas identificadas como *C. dubliniensis* y sólo 5 crecieron en el medio.

La prueba bioquímica de fermentación de carbohidratos arrojó algunos resultados dispares entre las cepas estudiadas. Sin embargo, a partir de esta prueba se pudieron identificar 66 (97,00%) de los aislamientos, los cuales presentaron perfiles coincidentes con lo expuesto en la tabla de identificación de levaduras (anexo 1), resultados similares fueron hallados por López *et al.* (2005), quienes lograron identificar a través de esta prueba un 98,00% de los aislados. En esta investigación, de los 69 aislamientos clínicos, 51 presentaron el perfil de fermentación de hidratos de carbono que corresponde a *C. albicans* y *C. dubliniensis*, 5 presentaron un perfil típico de *C. krusei*, 5 siguieron el perfil que corresponde a *C. lusitaniae*, 4 el perfil de *C. tropicalis* y 1 el perfil de *C. parapsilosis*. Los 3 aislamientos restantes no presentaron perfiles típicos que correspondieran con los tabulados para las diferentes especies de *Candida*, utilizando esta prueba.

En la tabla 3 se muestran los resultados de las pruebas de susceptibilidad antifúngica de las diferentes especies de *Candida* a fluconazol, itraconazol y voriconazol, donde se pudo evidenciar que *C. tropicalis* y *C. krusei*, a diferencia de las otras especies, desarrollaron una mayor resistencia *in vitro* a estos antifúngicos (apéndice 8.2), sin embargo, es importante resaltar que *C. krusei* posee resistencia intrínseca a

fluconazol.

Tabla 3. Sensibilidad a fluconazol, itraconazol y voriconazol, utilizando el método de difusión en agar en cepas de *C. albicans*, *C. dubliniensis*, *C. krusei*, *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*, provenientes de mucosa oral de pacientes infectados con VIH que asistieron a la consulta de medicina interna del Hospital Universitario Antonio Patricio de Alcalá, en Cumaná, estado Sucre. Enero – abril 2011.

Antifúngicos	Fluconazol		Itraconazol		Voriconazol	
	S	R	S	R	S	R
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
<i>C. albicans</i>	33 47,83	15 21,74	26 37,68	22 31,88	12 17,39	36 52,17
<i>C. dubliniensis</i>	0 0,00	6 8,70	2 2,90	4 5,80	4 5,80	2 2,90
<i>C. krusei</i>	0 0,00	5 7,25	2 2,90	3 4,35	3 4,35	2 2,90
<i>C. lusitaniae</i>	2 2,90	3 4,35	1 1,45	4 5,80	5 7,25	0 0,00
<i>C. tropicalis</i>	1 1,45	3 4,35	0 0,00	4 5,80	1 1,45	3 4,35
<i>C. parapsilosis</i>	1 1,45	0 0,00	0 0,00	1 1,45	1 1,45	0 0,00

S: sensible; R: resistente; n: número de cepas; %: porcentaje.

La creciente resistencia a los tratamientos antimicóticos, especialmente en pacientes inmunocomprometidos, como aquellos con infección por VIH y la ampliación de las opciones de tratamiento ha llevado a la necesidad de que las pruebas de sensibilidad antifúngica sean clínicamente relevantes, dicha resistencia con frecuencia se ha atribuido a una presión selectiva provocada por agentes azólicos y las dosis acumuladas debidas a la exposición a varios cursos de terapias de supresión a corto o largo plazo, en pacientes con candidiasis orofaríngea.

El fluconazol se considera el fármaco de elección para el tratamiento de la candidiasis orofaríngea en pacientes con infección por VIH, debido a su buena absorción, baja toxicidad y su capacidad para ser administrado a través tanto vía oral como intravenosa, sin embargo, su exposición prologada puede ser causa de desarrollo de resistencia. En el presente estudio, la mayor resistencia a fluconazol estuvo representada por las especies de *Candida* no *albicans* (24,63%). Todas las cepas aisladas de *C. dubliniensis* y *C. krusei* (tabla 3) fueron resistentes a este antimicótico. Estos resultados son congruentes con los reportados por otros autores, quienes describen a *C. krusei* como un patógeno oportunista seleccionado por su característica de ser intrínsecamente

resistente; esta resistencia se atribuye a una disminución de la sensibilidad de la enzima diana, 14 α -demetilasa, a la inhibición por parte de esta droga, cuya función es prevenir la conversión de lanosterol a ergosterol, componente esencial de la membrana citoplasmática y subsecuente acumulación de 14 α -metil esteroides (Orozco *et al.*, 1998; Fukuoka *et al.*, 2003; Hartung *et al.*, 2005; Guinea *et al.*, 2006). En cuanto a *C. dubliniensis*, diferentes autores concuerdan en que su mecanismo de resistencia se basa en una sobreexpresión de la proteína Mdr1p (codificada por el gen CdCDR1) (Wirsching *et al.*, 2001; Sullivan *et al.*, 2004; Pinjon *et al.*, 2005; Schubert *et al.*, 2008).

Así mismo, otras especies como *C. lusitaniae* y *C. tropicalis* presentaron resistencia a fluconazol en más del 50,00% de las cepas (4,35%) en cada caso (tabla 3). Resultados similares fueron reportados por Nadagir *et al.* (2008), quienes demostraron que las especies de *Candida* no *albicans*, presentaban una marcada resistencia a este antifúngico. No obstante, 21,74% de las cepas de *C. albicans* presentaron resistencia al fluconazol (tabla 3), estos resultados coinciden con Gutiérrez *et al.* (2007), quienes obtuvieron 20,80% de cepas de *C. albicans* resistentes a este antimicótico. Ésto debido, según diferentes investigaciones, a mutaciones en el gen ERG11 que codifica la enzima 14 α -demetilasa disminuyendo la afinidad de este azol por su blanco de ataque (Barchiesi *et al.*, 2000; Noël *et al.*, 2003; Vandeputte *et al.*, 2005; Reboutier *et al.*, 2009; Kothavade *et al.*, 2010).

De igual manera, la mayor resistencia a itraconazol se obtuvo en cepas de *C. albicans* (31,88%), seguida de *C. dubliniensis* (5,80%), *C. lusitaniae* (5,80%) y *C. tropicalis* (5,80%). La única cepa de *C. parapsilosis* aislada presentó resistencia sólo a itraconazol (1,45%); en contraste con estos resultados, Melo *et al.* (2004), encontraron un gran porcentaje de cepas resistentes a itraconazol tanto de *C. albicans* (46,24%) en 173 aislamientos; sin embargo, Skrodeniene *et al.* (2006), hallaron igual porcentaje de aislamientos resistentes de especies de *C. albicans* y no *albicans*. En cuanto a voriconazol, *C. albicans* fue la especie con mayor resistencia (52,17%) a este antifúngico y en menor porcentaje las especies no *albicans* (10,15%), estos resultados

difieren con Sánchez *et al.* (2010), quienes obtuvieron un 100% de susceptibilidad al voriconazol tanto en especies de *C. albicans* como no *albicans* resistentes a azoles.

La alta resistencia de aislados de *C. albicans* a los diferentes compuestos azólicos puede ser consecuencia, al igual que en *C. dubliniensis*, a una sobreexpresión debida a mutaciones de la proteína Mdr1p, la cual es una bomba de expulsión de compuestos endógenos y xenobióticos fuera de la célula (Hiller *et al.*, 2006; Chen *et al.*, 2009; Zhu *et al.*, 2010; Bruzual y Kumamoto 2011; Schubert *et al.*, 2011). Además, los cambios en la afinidad de los azoles por la enzima 14 α -demetilasa causados por sustituciones de aminoácidos han sido reportados como un mecanismo de resistencia a antifúngicos azólicos en aislados de *C. albicans*; con respecto a esto, Feng *et al.* (2010), obtuvieron 19 sustituciones de aminoácidos en el gen ERG11 en 10 aislados de *C. albicans*.

En la tabla 4, se muestra la asociación entre la resistencia antifúngica de las especies de *Candida* con los factores epidemiológicos y clínicos de los pacientes de este estudio, donde se puede observar que la mayoría de las cepas de *C. albicans* fueron resistentes a voriconazol y las mismas provinieron de pacientes, infectados con VIH, con sintomatología clínica de candidiasis oral (19), de sexo masculino (22), entre 30 y 40 años de edad (14), sin tratamiento previo con fluconazol (21) y que tenían tratamiento antirretroviral con inhibidores de la proteasa (IP) (16). En el caso de *C. dubliniensis*, todas las cepas resistentes a fluconazol, fueron aisladas mayormente de pacientes sintomáticos (4), de sexo masculino (6), entre 30 y 40 años (3), con tratamiento previo con fluconazol (4) y tratamiento antirretroviral con IP (3). Por otro lado, las cepas de *C. lusitaniae* resistentes mayormente a itraconazol, se aislaron principalmente de pacientes con síntomas clínicos (3), de sexo femenino (3), entre 26 y 30 años (3), sin tratamiento previo con fluconazol (3) y tratamiento antirretroviral con inhibidores no nucleósidos de la transcriptasa reversa (INNTR) (3). Las cepas de *C. krusei* pertenecían, en su mayoría, a pacientes con sintomatología clínica para candidiasis oral (3), de sexo masculino (5), entre 20 y 25 años (3), con tratamiento previo con fluconazol (5) y tratamiento antirretroviral con IP (3); así mismo; las cepas de *C. tropicalis* principalmente resistentes

a itraconazol fueron aisladas en mayor porcentaje, de pacientes con síntomas clínicos (3), de sexo masculino (3), mayores de 40 años (3), con tratamiento previo con fluconazol (3) y tratamiento antirretroviral con IP (2). La cepa de *C. parapsilosis* aislada, fue resistente a itraconazol y provenía de un paciente sintomático (1), de sexo masculino (1), de 32 años (1), con tratamiento previo con fluconazol (1) y tratamiento antirretroviral con IP (1).

El uso extensivo de azoles puede ser un terreno favorable para la aparición de especies de levaduras resistentes y por tanto, el fracaso del tratamiento clínico, Magaldi *et al.* (2001) encontraron que el 9,80% y 4,90% de resistencia en aislados de *C. albicans* de pacientes sin tratamiento previo fueron resistentes a fluconazol e itraconazol, respectivamente; las cuales aumentaron a 44,70% y 44,15% respectivamente, después del tratamiento con estas drogas. Estos datos sugieren que el uso continuo de agentes antifúngicos, en particular fluconazol, puede conducir al fracaso del tratamiento clínico que es significativamente correlacionado con una menor susceptibilidad a fluconazol, itraconazol y otros azoles; sin embargo, en los resultados obtenidos del presente estudio no se encontró una asociación estadísticamente significativa entre la resistencia de *C. albicans* a compuestos azólicos y el tratamiento previo con estos antifúngicos.

El comensalismo de *C. albicans* no es el resultado de un comportamiento benigno de uno de los muchos componentes de la microbiota humana, sino más bien el resultado de potentes receptores de la respuesta inmune innata y adaptativa que limitan el crecimiento de un microorganismo, potencialmente peligroso, en el epitelio. La pérdida selectiva de células del sistema inmune con la progresión de la infección por el VIH causa el decaimiento de la contención de hongos en el epitelio oral y permite que *C. albicans* pueda expresar su potencial patogénico, provocando una serie de signos y síntomas característicos según el tipo de candidiasis oral como grumos, placas gelatinosas, erosiones, úlceras, dolor y ardor, nódulos blanquecinos, entre otros (Aguirre, 2002; Cassone y Cauda, 2012; Gow y Hube, 2012). En esta investigación se aislaron cepas de pacientes tanto sintomáticos como asintomáticos para candidiasis oral y se encontró

relación estadísticamente significativa entre la resistencia al voriconazol, en aislados de *C. albicans* y la presencia de síntomas de candidiasis oral ($p < 0,017$); sin embargo, no existen trabajos previos que relacionen la presencia o ausencia de estos síntomas con la resistencia de *Candida* spp a compuestos azólicos en pacientes infectados con VIH.

En este estudio el mayor índice de resistencia a compuestos azólicos se presentó en aquellos aislamientos provenientes de pacientes de sexo masculino, con edades comprendidas entre 31 y 40 años de edad; sin embargo, no hubo asociación estadísticamente significativa entre la resistencia a los antifúngicos y la edad o el sexo. No hay trabajos que demuestren que estos factores epidemiológicos sean importantes en el desarrollo de resistencia de las especies de *Candida* a azoles.

Tabla 4. Asociación entre la resistencia a azoles de las especies de *Candida* aisladas con las variables clínicas y demográficas de los pacientes infectados con VIH que asistieron a la consulta de medicina interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”. Enero - abril 2011.

Variables	<i>C. albicans</i>			<i>C. dubliniensis</i>			<i>C. lusitaniae</i>			<i>C. krusei</i>			<i>C. tropicalis</i>			<i>C. parasilopsis</i>		
	F	I	V	F	I	V	F	I	V	F	I	V	F	I	V	F	I	V
	(15)	(22)	(36)	(6)	(4)	(2)	(3)	(4)	(0)	(5)	(3)	(2)	(3)	(4)	(3)	(0)	(1)	(0)
Sintomáticas	8	12	19*	4	3	2	2	3	0	3	2	2	2	3	3	0	1	0
Asintomáticas	7	10	17	2	1	0	1	1	0	2	1	0	1	1	0	0	0	0
Sin tratamiento	9	13	21**	2	1	0	0	3	0	0	1	0	2	1	0	0	0	0
Con tratamiento (Fluconazol)	6	9	15	4	3	2	3	1	0	5	2	2	1	3	3	0	1	0
Sexo																		
Masculino	10	15	22	6	4	2	1	1	0	5	3	2	2	3	2	0	1	0
Femenino	5	8	14	0	0	0	2	3	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
Edad																		
20 – 25	2	2	4	0	0	0	0	0	0	3	2	0	0	0	0	0	0	0
26 – 30	3	3	13	1	1	2	1	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
31 – 40	6	12	14	3	2	0	2	1	0	1	1	0	1	1	1	0	1	0
> 40	4	5	5	2	1	0	0	0	0	1	0	2	2	3	2	0	0	0
Tratamiento Antiretroviral																		
IP	8	12	16	3	2	2	2	1	0	3	2	2	2	2	2	0	1	0
INNTR	3	4	8	1	0	0	1	3	0	2	1	0	1	1	1	0	0	0
INTR	4	6	12	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0

n: número de cepas; IP: inhibidor de la proteasa; INTR: inhibidor nucleósido de la transcriptasa reversa; INNTR: inhibidor no nucleósido de la transcriptasa reversa; F: fluconazol; I: itraconazol; V: voriconazol; *OR: 4,47- 5,10 (p<0,017); **OR: 4,6 (p<0,01)

Con el desarrollo de medicamentos antirretrovirales eficaces, las tasas de candidiasis oral y de colonización oral por *Candida* spp decrecieron notablemente, estas disminuciones se asociaron con las tendencias hacia la reducción de las tasas de aislamientos resistentes a fluconazol en pacientes infectados con VIH (Thompson *et al.*, 2010). La epidemiología de la candidiasis oral en pacientes que reciben terapia antirretroviral y la importancia de la resistencia antifúngica en esta población no están bien descritas. En esta investigación, la mayoría de los aislados resistentes a compuestos azólicos provinieron de pacientes que tenían tratamiento con IP; a pesar de ello, no hubo asociación estadísticamente significativa entre el uso de antirretrovirales y la resistencia a zoles, en contraste con estos resultados, Migliorati *et al.* (2004), hallaron una disminución significativa de la resistencia de *Candida* spp a ketaconazol e itraconazol al añadirle ritonavir (INTR) a los medios que contenían estos antifúngicos ($p < 0,5$); así mismo, Tacconelli *et al.* (2002), demostraron una disminución significativa de la resistencia al fluconazol desde un 45 a 10,00% ($p < 0,001$) e itraconazol de 37,00 a 7,00% ($p < 0,001$) luego del tratamiento con antirretrovirales de gran actividad.

En la tabla 5, se muestran los niveles de linfocitos T CD4⁺ y la carga viral de los pacientes de este estudio en relación con la presencia de candidiasis, donde puede observarse que la mayoría de los pacientes positivos para candidiasis fueron aquellos con carga viral superior a 50 copias por mm³ y un recuento de linfocitos T CD4⁺ inferior a 200 células por mm³ (35,60%), por el contrario aquellos pacientes positivos con carga viral inferior a 50 copias por mm³ presentaron en su mayoría un recuento de linfocitos T CD4⁺ superior a 350 células por mm³ (11,01%).

Clínicamente la candidiasis oral es más común en pacientes infectados con altas cargas de ARN de VIH y un recuento de linfocitos T CD4⁺ inferior a 200 células por mm³. Los linfocitos T CD4⁺ representan la primera línea de defensa contra *Candida* spp, la depleción del número de células T CD4⁺ y el cambio en la expresión de citoquinas Th1 y Th2 reducen la expresión de macrófagos y PMNs provocando la aparición de candidiasis oral (De Rentigny *et al.*, 2004; Arora *et al.*, 2009).

Tabla 5. Asociación de los niveles de linfocitos T CD4⁺ y la carga viral con la presencia de candidiasis en pacientes infectados con VIH que asistieron a la consulta de medicina interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, en Cumaná, edo. Sucre. Enero - abril 2011.

	Positivos		Negativos		Total		Significancia
	N	%	N	%	N	%	
Carga viral							
>50 copias/ml							
TCD4 ⁺ cel/mm ³							
>350	12	26,67	10	24,39	22	25,58	$\chi^2 = 0,958$ NS
200-350	10	22,22	6	14,63	16	18,16	$\chi^2 = 1,932$ NS
<200	16	35,56	3	7,32	19	22,09	$\chi^2 = 10,132$ *
Carga viral							
<50 copias/ml							
TCD4 ⁺ cel/mm ³							
>350	5	11,11	18	43,90	23	26,74	$\chi^2 = 0,937$ NS
200-350	1	2,22	4	9,76	5	5,81	$\chi^2 = 0,321$ NS
<200	1	2,22	0	0,00	1	1,16	$\chi^2 = 0,000$ NS

N: número de pacientes; %: porcentaje; cel: células; NS: no significativo con corrección de Yates $\chi^2(1;0,05) = 2,958$; *: significativo con corrección de Yates $\chi^2(1;0,001) = 8,932$.

Los resultados de este estudio, demuestran que la colonización oral por *Candida* spp fue significativamente más frecuente en aquellos pacientes con carga viral superior a 50 copias de ARN de VIH y un recuento de linfocitos T CD4⁺ inferior a 200 cel/mm³, dichos resultados concuerdan con Delgado *et al.* (2009), quienes encontraron, en un estudio llevado a cabo en Brasil, asociación significativa entre la colonización oral por *Candida* spp con una alta carga de ARN de VIH y una disminución en el conteo de células T CD4⁺ por debajo de 200 cel/mm³ (p<0,003). Igualmente, Liu *et al.* (2006), demostraron un aumento en la frecuencia de candidiasis oral a medida que el conteo de linfocitos T CD4⁺ disminuía (p<0,0001), además de un predominio de candidiasis pseudomembranosa en aquellos pacientes infectados con VIH con T CD4⁺ inferior a 200 cel/mm³. Además Wu *et al.* (2012), establecieron que un conteo de linfocitos T CD4⁺ superior o igual a 200 cel/mm³ se asocia con un menor riesgo de colonización oral por levaduras. Sin embargo, Bandar *et al.* (2006) y Kamtane *et al.* (2012), difieren con estos resultados, ya que en investigaciones realizadas en pacientes infectados con VIH demostraron que no había correlación entre la colonización oral por *Candida* spp y recuentos bajos de células T CD4⁺.

CONCLUSIONES

Candida albicans fue la especie aislada con mayor frecuencia de la cavidad oral de pacientes infectados con VIH.

Fluconazol sigue siendo el antifúngico más eficaz contra *Candida albicans*, mientras voriconazol para especies no *albicans*.

El recuento de linfocitos T CD4⁺ inferior a 200 cel/mm³ así como, cargas de ARN de VIH superior a 50 copias resultaron significativamente, asociados con la presencia de candidiasis oral en la población de estudio.

RECOMENDACIONES

A pesar de que la frecuencia de especies de *Candida* no *albicans* fue significativamente menor que la de *Candida albicans*, en pacientes con candidiasis oral, se recomienda continuar el estudio de aislamientos de estas especies principalmente, en pacientes infectados con VIH, con el fin de vigilar la emergencia de resistencias.

Es recomendable el estudio de la susceptibilidad *in vitro* a antifúngicos en especies de *Candida*, ya que permite obtener datos relativamente confiables a la hora de seleccionar el fármaco más adecuado para el tratamiento de la candidiasis.

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, J. 2002. Candidiasis orales. *Rev. Iberoam. Micol.*, 19: 17-21.
- Alfonso, C.; López, M.; Arechavala, A.; Perrone, M.; Guelfand, L. y Bianchi, M. 2010. Identificación presuntiva de *Candida* spp. y de otras levaduras de importancia clínica: utilidad de Brilliance *Candida* Agar. *Rev. Iberoam. Micol.*, 27(2): 90-93.
- Al-Sweih, N.; Ahmad, S.; Khan, Z.; Khan, S. y Chandy, R. 2005. Prevalence of *Candida dubliniensis* among germ tube positive *Candida* isolates in a maternity hospital in Kuwait. *Myco.*, 48: 347-351.
- Alvarez, M.; Suarez, B. y Caicedo, L. 2009. Isolation of *Candida dubliniensis* for the First Time in Cali, Colombia, and its identification with phenotyping methods. *Mycopath.*, 167: 19-24.
- Alves, S.; Milan, E.; de Laet, P.; Oliveira L.; Santurio, J. y Colombo, A. 2002. Hypertonic sabouraud broth as a simple and powerful test for *Candida dubliniensis* screening. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 43: 85-86.
- Arias, M.; Guilhermetti, E.; Suemi, C.; Takaki, I. y Estivalet, T. 2007. Identificação microbiológica e sensibilidade *in vitro* de *Candida* isoladas da cavidade oral de indivíduos HIV positivos. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, 40(3): 272-276.
- Arora, U.; Jagdev, M. y Jindal, N. 2009. Immunosuppression level in HIV positive patients with oropharyngeal candidiasis. *Indian Med. Microbiol.*, 27(2): 174-175.
- Ballesté, R.; Arteta, Z.; Fernández, N.; Mier, C.; Mousqués, N.; Xavier, B.; Cabrera, M.; Acosta, G.; Combol, A. y Gezuele, E. 2005. Evaluación del medio cromógeno CHROMagar *Candida* para la identificación de levaduras de interés médico. *Rev. Med. Uruguay*, 21: 186-193.
- Bandar, I.; Widodo, D.; Dejauzi, S.; Muthalib, A.; Soegondo, S.; Wahyuningsih, R. 2006. Correlation between CD4 count and intensity of *Candida* colonization in the oropharynx of HIV infected/AIDS patient. *Acta Med. Indones*, 38(3):119-25.
- Baradkar, V. y Kumar, S. 2009. Species identification of candida isolates obtained from oral lesions of HIV infected patients. *Indian J. Dermatol.*, 54(4): 385-386.
- Barchiesi, F.; Calabrese, D.; Sanglard, D.; Falconi, L.; Caselli, F.; Giannini, D.; Giacometti, A.; Gavauan, S. y Scalise, G. 2000. Experimental induction of fluconazole resistance in *Candida tropicalis* ATCC 750. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 44(6): 1578-1584.

[Blignaut, E.](#) 2007. Oral candidiasis and oral yeast carriage among institutionalised South African paediatric HIV/AIDS patients. *Mycopathol.*, 163(2): 67-73.

[Bruzual, I.](#) y [Kumamoto, C.](#) 2011. An MDR1 promoter allele with higher promoter activity is common in clinically isolated strains of *Candida albicans*. *Mol. Genet. Genomics*, 286(5): 347-357.

Casas, G. 1994. *Micología general: hongos y su campo de acción*. Segunda edición. Editorial Biblioteca de la Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.

[Cassone, A.](#) y [Cauda, R.](#) 2012. *Candida* and candidiasis in HIV-infected subjects. Where commensalism, opportunistic behavior and frank pathogenicity lose their borders. *ADIS.*, 26 (12): 1457-1472.

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

[Chen, C.](#); [Yang, Y.](#); [Tseng, K.](#); [Shih, H.](#); [Liou, C.](#); [Lin, C.](#) y [Lo, H.](#) 2009. Rep1p negatively regulating MDR1 efflux pump involved in drug resistance in *Candida albicans*. *Fungal Genet. Biol.*, 46(9): 714-720.

Clinical and laboratory standards institute (CLSI). 2008. Method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeast. Tercera edición. M27-A3. National committee for clinical and laboratory standards, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA.

Cuétara, M.; Alambra, A. y Del Palacio, A. 2006. Diagnóstico microbiológico tradicional de la candidiasis invasora en el enfermo crítico no neutropénico. *Rev. Iberoam. Micol.*, 23: 4-7.

Delgado, A.; De Jesús, P.; Aoki, F.; Resende, M.; Trabasso, P.; Colombo, A.; De Oliveira, M.; Mikami, Y. y Moretti, M. 2009. Clinical and microbiological assessment of patients with a long-term diagnosis of human immunodeficiency virus infection and *Candida* oral colonization. *Clin. Microbiol. Infect.*, 15: 364-371.

Delgado, A.; Polanco, A.; Amich, S.; Prieto, S. y Salve, M. 2000. *Manual de laboratorio clínico básico*. Primera edición. Editorial McGraw Hill Interamericana. España.

De Repentigny, L.; Lewandowski, D. y Jolicoeur, P. 2004. Immunopathogenesis of oropharyngeal candidiasis in human immunodeficiency virus infection. *Rev. Microbiol. Clin.*, 17(4): 729-759.

Duarte, A.; Marquez, A.; Araujo, C. y Pérez, C. 2009. Modalidades de la prueba del tubo germinal. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 29: 1.

Ellepola A.; Hurst, S.; Elie, C. y Morrison, C. 2003. Rapid and unequivocal differentiation of *Candida dubliniensis* from other *Candida* species using species-specific DNA probes: comparison with phenotypic identification methods. *Oral Microbiol. Immunol.*, 18: 379-388.

[Feng, L.](#); [Wan, Z.](#); [Wang, X.](#); [Li, R.](#) y [Liu, W.](#) 2010. Relationship between antifungal resistance of fluconazole resistant *Candida albicans* and mutations in ERG11 gene. [Chin. Med. J.](#), 123(5): 544-548.

Fidel, P. 1999. Host defense against oropharyngeal and vaginal candidiasis: Site-specific differences. *Rev. Iberoam. Micol.*, 16: 8-15.

Flores, E. 1998. Prevalencia de candidosis cutánea y candidosis oral en ancianos institucionalizados. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Cumaná.

Freydiere, A.; Guinet, R. y Boiron, P. 2001. Yeast in the clinical microbiology laboratory: phenotypical methods. *Med. Micol.*, 39: 9-33.

[Fukuoka, T.](#); [Johnston, D.](#); [Winslow, C.](#); [de Groot, M.](#); [Burt, C.](#); [Hitchcock, C.](#) y [Filler, S.](#) 2003. Genetic basis for differential activities of fluconazole and voriconazole against *Candida krusei*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 47(4): 1213- 1219.

Godoy, P.; Tiraboschi, I.; Severo, L.; Bustamante, B.; Calvo, B.; De Almeida, L.; Da Matta, D. y Colombo, A. 2003. Species distribution and antifungal susceptibility profile of *Candida* spp. bloodstream isolates from latin american hospitals. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 98(3): 401-405.

Gorther, C. 1996. Enfermedades Micóticas. *Not. Post.*, 2(4): 506-508.

[Gow, N.](#) y [Hube, B.](#) 2012. Importance of the *Candida albicans* cell wall during commensalism and infection. [Curr. Opin. Microbiol.](#), 15(4): 406- 412.

[Guinea, J.](#); [Sánchez-Somolinos, M.](#); [Cuevas, O.](#); [Peláez, T.](#) y [Bouza E.](#) 2006. Fluconazole resistance mechanisms in *Candida krusei*: the contribution of efflux-pumps. *Med. Micol.*, 44(6): 575-578.

Gutiérrez, C.; De Bedout, C.; Tobón, A.; Cano, L.; Arango, M.; Tabares, A. y Restrepo, A. 2007. Sensibilidad a fluconazol y voriconazol de aislamientos de *Candida* spp., obtenidos de mucosa oral de pacientes con SIDA. *Infect.*, 11(4): 183-189.

[Hamza, O.](#); [Matee, M.](#); [Moshi, M.](#); [Simon, E.](#); [Mugusi, F.](#); [Mikx, F.](#); [Rijs, A.](#); [Van der Ven, A.](#) y [Verweij, P.](#) 2008. Species distribution and in vitro antifungal susceptibility of oral yeast isolates from Tanzanian HIV-infected patients with primary and recurrent oropharyngeal candidiasis. [BMC. Microbiol.](#), 8: 135.

[Hartung, C.](#); [Mata-Essayag, S.](#); [Pérez, C.](#); [Colella, M.](#); [Roselló, A.](#); [Olaizola, C.](#) y Abate, S. 2005. Detection of *Candida dubliniensis* in Venezuela. *Mycopathol.*, 160: 227-234.

Hartz, S.; Pipolo, E.; Oliveira, L.; Santurio, J. y López, A. 2002. Hypertonic sabouraud broth as a simple and powerful test for *Candida dubliniensis* screening. *Diag. Microbiol. Infect. Dis.*, 43: 85-86.

Higuerey, E. y Ortiz, F. 2011. Diferenciación fenotípica y molecular de *Candida dubliniensis* aisladas de pacientes con candidosis en diferentes centros de salud de Cumaná, estado Sucre. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis. Universidad de Oriente, Cumaná.

[Hiller, D.](#); [Sanglard, D.](#); y [Morschhäuser, J.](#) 2006. Overexpression of the MDR1 gene is sufficient to confer increased resistance to toxic compounds in *Candida albicans*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 50(4): 1365–1371..

Hospenthal, D.; Beckius, M.; Floyd, K.; Horvath, L. y Murray, C. 2006. Presumptive identification of *Candida* species other than *C. albicans*, *C. krusei*, and *C. tropicalis* with the chromogenic medium CHROMagar *Candida*. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 5: 1.

Jiménez, R. 2000. Bioestadística. Métodos estadísticos descriptivos. Universidad de los Andes. Mérida. Venezuela

Junqueira, J.; Vilela, S.; Rossoni, R.; Barbosa, J.; Costa, A.; Rasteiro, V.; Suleiman, J.; Olavo, A. 2012. Oral colonization by yeasts in HIV positive patients in Brazil. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo*, 54(1): 17-24.

[Kamtane, S.](#); [Subramaniam, A.](#) y [Suvarna, P.](#) 2012. A comparative study of oral candidal carriage and its association with CD4 count between HIV positive and healthy individuals. *J. Int. Assoc. Physicians. AIDS.*, 23: 7-14.

Katirae, F.; Khosravi, A.; Khalaj, V.; Hajiabdolbaghi, M. Khaksar, A.; Rasoolinejad, M.; Yekaninejad, M. 2010. Oropharyngeal candidiasis and oral yeast colonization in iranian human immunodeficiency virus positive patients. *J. Mycol. Med.*, 20: 8-14.

[Kirkpatrick, W.](#); [Revankar, S.](#); [Mcatee, R.](#); [Lopez-Ribot, J.](#); [Fothergill, A.](#); [McCarthy, D.](#); [Sanche, S.](#); [Cantu, R.](#); [Rinaldi, M.](#) y [Patterson, T.](#) 1998. 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.*, 36(10): 3007–3012.

Koehler, A.; Chu, K.; Honang, E. y Cheng, A. 1999. Simple, reliable, and cost-effective yeast identification scheme for the clinical laboratory. *J. Clin. Microbiol.*, 37: 422-436.

Koneman, E.; Allen, S.; Dowell, V.; Jonda, W.; Sommers, H. y Winn, W. 1999. Diagnóstico microbiológico. Tercera edición. Editorial Médica Panamericana. México.

[Kothavade, R.](#); [Kura, M.](#); [Valand, A.](#) y [Panthaki, M.](#) 2010. Candida tropicalis: its prevalence, pathogenicity and increasing resistance to fluconazole. [J. Med. Microbiol.](#), 59(8): 873-880.

Kurtzman, C. y Fell, V. 1998. The yeasts, a taxonomic study. Cuarta edición. Elsevier Science . B.V. Amsterdam.

Lasker, B.; Elie, C. y Lott, T. 2001. Molecular epidemiology of Candida albicans strains isolated from the oropharynx of HIV positive patients at successive clinic visits. *Med. Micol.*, 39: 341-352.

Lehner, T. 1966. Immunofluorescence study of Candida albicans in candidiasis, carriers and controls. [J. Pathol. Bacteriol.](#), 91(1): 97-104.

Liu, X.; Liu, H.; Guo, Z.; y Luan, W. 2006. Association of asymptomatic oral candidal carriage, oral candidiasis and CD4 lymphocyte count in HIV positive patients in China. *Oral Dis.*, 12(1): 41-44.

Lobaína, T. 2010. Métodos cromogénicos y fluorogénicos para el diagnóstico de especies de Candida de relevancia clínica. Trabajo para obtener el grado científico de Doctor en Ciencias de la Salud. Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri”. Centro Nacional de Biopreparados. La Habana, Cuba.

López, C.; Giro, L.; Ramos, L.; Ramadán, S. y Bulacio, L. 2005. Comparación de diferentes métodos para la identificación de especies del género Candida. *Rev. Argent. Microbiol.*, 37: 16-21.

López-Ribot, J.; McAtee, R.; Kirkpatrick, W.; Perea, S. y Patterson, T. 2000. Comparison of DNA-based typing methods to assess genetic diversity and relatedness among Candida albicans clinical isolates. *Rev. Iberoamer. Micol.*, 17: 49-54.

Lusvarghi, A.; Da Silveira, F.; Costa, M. y Andrade, M. 2008. Oral candidiasis in HIV+ patients under treatment with protease inhibitors. *Braz. Oral Res.*, 22(4): 371-377.

Madhavan, P.; Jamal, F.; Chong, P. y Ng, K. 2011. Identification of local clinical Candida isolates using chromagar Candida as a primary identification method for various Candida species. [Trop. Biomed.](#), 28(2): 269-274.

- [Magaldi, S.](#); [Mata, S.](#); [Hartung, C.](#); [Verde, G.](#); [Deibis, L.](#); [Roldán, Y.](#) y [Marcano, C.](#) 2001. In vitro susceptibility of 137 *Candida* sp. isolates from HIV positive patients to several antifungal drugs. *Mycopatho.*, 149(2): 63-68.
- Mata, S.; Hartung, C.; Sánchez, L.; Gallardo, S.; Pérez, C.; Colella, M.; Magaldi, S.; Reyes, H.; Ontiveros, J.; Olaizola, C. y Suárez, R. 2002. Aislamiento de *Candida dubliniensis* en Venezuela. [Antibiot. infecc.](#), 10(4): 165-170.
- Maninder, J. y Usha, A. 2008. Isolation, characterization and antifungal susceptibility pattern of *Candida* species causing oropharyngeal candidiasis in HIV positive patients. [J. Commun. Dis.](#), 40(3): 177-181.
- Melo, N.; Taguchi, H.; Jorge, J.; Pedro, R.; Almeida, O.; Fukushima, K.; Nishimura, K.; Miyaji, M. 2004. Oral *Candida* flora from brazilian human immunodeficiency virus infected patients in de highly active antiretroviral therapy era. [Mem. Inst. Oswaldo Cruz](#), 99(4): 425-431.
- Mendoza, M. 2005. Importancia de la identificación de levaduras. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 25: 13-21.
- Mendoza, M. y Díaz, E. 2001. Producción de Clamidosporas y micelio en levaduras empleando diversos medios de cultivos. *Bol. Inf.*, 35: 15-23.
- Mesa, L.; Arcaya, N.; Pineda, M.; Beltrán-Luengo, H. y Calvo, B. 2005. Candidemia en el Hospital Universitario de Maracaibo Estado Zulia, Venezuela 2000-2002. *Rev. Soc. Ven. Microbiol.*, 25: 109-113.
- [Migliorati, C.](#); [Birman, E.](#) y [Cury, A.](#) 2004. Oropharyngeal candidiasis in HIV-infected patients under treatment with protease inhibitors. [Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. Oral Radiol. Endod.](#), 98(3): 301-310.
- Murray, D.; Baren, E.; Jorgensen, J.; Pfaller, M. y Tenover, R. 2003. Manual of clinical microbiology. Octava edición. American society for microbiology, Washinton, D.C.
- [Nadagir, S.](#); [Chunchanur, S.](#); [Halesh, L.](#); [Yasmeen, K.](#); [Chandrasekhar, M.](#) y [Patil, B.](#) 2008. Significance of isolation and drug susceptibility testing of non-*Candida albicans* species causing oropharyngeal candidiasis in HIV patients. *Southeast. Asian. J. Trop. Med. Public Health*, 39(3): 492-495.
- Nelwan, E. y Wisaksana, R. 2010. Clinical manifestation of oral candidiasis in a HIV patient. [Act. Med. Indones](#), 42(1): 43-44.
- Noel, T.; Francois, F.; Paumard, P.; Chastin, C.; Bréthes, D. y Villard, J. 2003. Flucytosine-fluconazole cross resistance in purine-cytosine permease deficient *Candida*

lusitaniae clinical isolates: indirect evidence of a fluconazole uptake transporter. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 47(4): 1275-1284.

[Nweze, E](#) y [Ogbonnaya, U.](#) 2011. [Oral Candida isolates among HIV infected subjects in Nigeria. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, 44\(3\): 172-177.](#)

Organización Panamericana de la Salud (OPS). 2000. Bioética. Principios éticos para los Investigadores en seres humanos. Publicación científica. OMS-OPS.

Orozco, A.; Higginbotham, L.; Hitchcock, C.; Parkinson, T.; Falconer, D.; Ibrahim, A.; Ghannoum, M. y Filler, S. 1998. Mechanism of fluconazole resistance in *Candida krusei*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 42(10): 2645-2649.

Pankhurst, L. 2009. Candidiasis (oropharyngeal). *Clin. Evid.*, 10: 1623-1639.

[Patel, M.](#); [Shackleton, J.](#); [Coogan, M.](#) 2006. Effect of antifungal treatment on the prevalence of yeasts in HIV infected subjects. [J. Med. Microbiol.](#), 55(9): 1279-1284.

Pinjon, E.; Jackson, C.; Kelly, S.; Sanglard, D.; Moran, G.; Coleman, D. y Sullivan, D. 2005. Reduced azole susceptibility in genotype 3 *Candida dubliniensis* isolates associated with increased CdCDR1 and CdCDR2 expression. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49(4): 1312-1318.

Quindós, G.; Alonso, R.; Helou, S.; Arechavala, A.; Martín, E. y Negroni, R. 2001. Evaluación micológica de un nuevo medio de cultivo cromógeno (*Candida ID*) para el aislamiento e identificación presuntiva de *Candida albicans* y otras levaduras de interés médico. *Rev. Iberoam. Micol.*, 18: 23-28.

[Reboutier, D.](#); [Piednoël, M.](#); [Boisnard, S.](#); [Conti, A.](#); [Chevalier, V.](#); [Florent, M.](#); [Gibot-Leclerc, S.](#); [Da Silva, B.](#); [Chastin, C.](#); [Fallague, K.](#); [Favel, A.](#); [Noël, T.](#); [Ruprich-Robert, G.](#); [Chapelard-Leclerc, F.](#) y [Papon, N.](#) 2009. Combination of different molecular mechanisms leading to fluconazole resistance in a *Candida lusitaniae* clinical isolate. [Diagn. Microbiol. Infect. Dis.](#), 63(2): 188-193.

Sahand, I.; Moragues, M.; Eraso, E.; Villar, M.; Quindós, G. y Pontón, J. 2009. Supplementation of chromagar *Candida* médium with pal's médium for rapid identification of *Candida dubliniensis*. *J. Clin. Microbiol.*, 43(11): 5768-5770.

Sanabria, R.; Samudio, M.; Fariña, N.; Laspina, F.; Ortellado, J.; Arbizu, G.; Laconich M. y Rodríguez, H. 2006. Identificación de especies de *Candida* aisladas de pacientes ambulatorios, hospitalizados, e inmunocomprometidos en Paraguay. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*, 4(2): 45-49.

Sánchez, L. 2005. Point prevalence, microbiology and antifungal susceptibility patterns of oral *Candida* isolates colonizing or infecting mexican HIV/AIDS patients and healthy persons. *Rev. Iberoam. Micol.*, 22(2): 83-92.

[Sánchez, L.](#); [Eraso, E.](#); [Carrillo, A.](#); [Aguirre, J.](#); [Gaitán, L.](#) y [Quindós, G.](#) 2010. In vitro activity of voriconazole against mexican oral yeast isolates. *Mycoses.*, 53(3): 200- 203.

Sánchez, M. 2006. Espectro clínico de la candidiasis invasora en el paciente crítico no neutropénico. *Rev. Iberoam. Micol.*, 23: 8-11.

[Schubert, S.](#); [Barker, K.](#); [Znaidi, S.](#); [Schneider, S.](#); [Dierolf, F.](#); [Dunkel, N.](#); [Aïd, M.](#); [Boucher, G.](#); [Rogers, D.](#); [Raymond, M.](#) y [Morschhäuser, J.](#) 2011. Regulation of efflux pump expression and drug resistance by the transcription factors Mrr1, Upc2, and Cap1 in *Candida albicans*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 55(5): 2212-2223.

Schubert, S.; Rogers, P. y Morschhauser, J. 2008. Gain of function mutations in the transcription factor MRR1 are responsible for overexpression of the MDR1 efflux pump in fluconazole resistant *Candida dubliniensis* strains. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 52(12): 4274-4280.

[Skrodeniene, E.](#); [Dambrauskiene, A.](#) y [Vitkauskiene, A.](#) 2006. Susceptibility of yeasts to antifungal agents in Kaunas University of Medicine Hospital. *Medicina. (Kaunas)*, 42(4): 294-299.

Sullivan, D.; Haynes, K.; Bille, J.; Boerlin, P.; Rodero, L.; Lloyd, S.; Henman, M. y Coleman, D. 1997. Widespread geographic distribution of oral *Candida dubliniensis* strains in human immunodeficiency virus-infected individuals. *J. Clin. Microbiol.*, 35(4): 960-964.

[Sullivan, D.](#); [Moran, G.](#); [Pinjon, E.](#); [Al-Mosaid, A.](#); [Stokes, C.](#); [Vaughan, C.](#) y [Coleman, D.](#) 2004. Comparison of the epidemiology, drug resistance mechanisms, and virulence of *Candida dubliniensis* and *Candida albicans*. *FEMS Yeast Res.*, 4: 369-376.

Sullivan, D.; Westerneng, T.; Haynes, K.; Bennett, D. y Coleman, D. 1995. *Candida dubliniensis*: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV infected individuals. *Microbiol.*, 141: 1507-1521.

[Tacconelli, E.](#); [Bertagnolio, S.](#); [Posteraro, B.](#); [Tumbarello, M.](#); [Boccia, S.](#); [Fadda, G.](#) y [Cauda, R.](#) 2002. Azole susceptibility patterns and genetic relationship among oral *Candida* strains isolated in the era of highly active antiretroviral therapy. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.*, 31(1): 38-44.

Thompson, G.; Patel, P.; Kirkpatrick, W.; Westbrook, S.; Berg, D.; Erlandsen, J.; Redding, S. y Patterson, T. 2010. Oropharyngeal candidiasis in the era of antiretroviral therapy. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol., Oral Radiol. and Endod.*, 109(4): 488-495.

Tovar, V.; Albornoz, E.; Guerra, M. y Lazarde, J. 2004. Prevalencia de candidiasis bucal en pacientes VIH/SIDA: Estudio retrospectivo. *Act. Odontol. Venez.*, 42(2): 30-33.

Vandeputte, P.; Larcher, G.; Bergés, T.; Renier, G.; Chabasse, D. y Bouchara, J. 2005. Mechanisms of azole resistance in a clinical isolate of *Candida tropicalis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 49(11): 4608-4615.

Wirshing, S.; Moran, G.; Sullivan, D.; Coleman, D. y Morschhauser, J. 2001. MDR1 mediated drug resistance in *Candida dubliniensis*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 45(12): 3416-3421.

[Wu, C.](#); [Lee, H.](#); [Yang, Y.](#); [Chang, C.](#); [Chen, H.](#); [Lin, C.](#); [Lee, N.](#); [Chu, W.](#); [Hsieh, L.](#); [Wang, Y.](#); [Lauderale, T.](#); [Tseng, F.](#); [Ko, N.](#); [Ko, W.](#) y [Lo, H.](#) 2012. Oropharyngeal yeast colonization in HIV-infected outpatients in southern Taiwan: CD4 count, efavirenz therapy and intravenous drug use matter. *Clin. Microbiol. Infect.*, 18(5): 485-490.

Zaragoza, R. y Pemán, J. 2006. Invasive fungal infections in critically ill patients: Different therapeutic options and a uniform strategy. *Rev. Iberoam. Micol.*, 23: 59-63.

[Zhu, C.](#); [Gao, P.](#) y [Jiang, Y.](#) 2010. Advances in the study of *Candida albicans* gene mutation on azole drug resistance. [Yao. Xue. Xue. Bao.](#), 45(7): 821-826.

APENDICES

APÉNDICE 1

SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA EN *Candida* spp. AISLADAS DE MUCOSA ORAL DE PACIENTES INFECTADOS CON EL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) EN CUMANÁ, ESTADO SUCRE.

FICHA DE REGISTRO DEL PACIENTE

Fecha: _____

DATOS DEL PACIENTE		
N°		
Nombres y Apellidos	Edad	Sexo
Fecha de Nacimiento	Lugar de Nacimiento	
Dirección de Habitación		

ÁREA DE ATENCIÓN	
Hospitalizado <input type="checkbox"/>	Ambulatorio <input type="checkbox"/>

Linfocitos T	Fecha	Fecha	Fecha	Fecha
N° CD4:		N° CD4:		N° CD4:
N° CD3:		N° CD3:		N° CD3:
N° CD8:		N° CD8:		N° CD8:
Carga Viral:				

TRATAMIENTO ANTIRRETROVIRAL (ARV)	
SI <input type="checkbox"/>	NO <input type="checkbox"/>

EN CASO AFIRMATIVO		DATOS CLÍNICOS	
Monoterapia	<input type="checkbox"/>	Biterapia	<input type="checkbox"/>
Triterapia	<input type="checkbox"/>	Más de tres fármacos	<input type="checkbox"/>
EN CASO NEGATIVO		DATOS CLÍNICOS	
Nunca lo recibí	<input type="checkbox"/>	Motivo:	
Suspendido	<input type="checkbox"/>	Motivo:	

ENFERMEDADES DIAGNOSTICADAS INDICATIVAS DE SIDA			
Diabetes	Si		No
En caso afirmativo:	Tiempo de Diagnosticada		
Tratamiento	Sí	No	Especifique:

Cáncer	Si		No
En caso afirmativo:	Tiempo de Diagnosticada		
Tratamiento	Sí	No	Especifique:
¿Ha sufrido Enfermedades renales?			Si No
En caso afirmativo:	Tiempo de Diagnosticada		
Tratamiento	Sí	No	Especifique:

¿Ha sufrido alguna otra enfermedad?			Si No
En caso afirmativo:	Tiempo de Diagnosticada		
Tratamiento	Sí	No	Especifique:

Diagnóstico micológico

Examen microscópico:
Levaduras identificadas:

APÉNDICE 2

CONSENTIMIENTO VÁLIDO

Bajo la coordinación de la M.Sc. Evis Parra, profesora de la Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre, se está realizando el proyecto de investigación intitulado “SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA EN *Candida* spp. AISLADAS DE MUCOSA ORAL DE PACIENTES INFECTADOS CON EL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) EN CUMANÁ, ESTADO SUCRE”.

Yo: _____

C.I: _____

Nacionalidad: _____

Estado Civil: _____

Domiciliado en: _____

Siendo mayor de edad, en uso pleno de mis facultades y sin que medie coacción ni violencia alguna en completo conocimiento de la naturaleza, forma, duración, propósito, inconvenientes y riesgos relacionados con el estudio médico declaro mediante la presente:

1.- Haber sido informado (a) de manera clara y sencilla por parte del investigador de este proyecto de todos los aspectos relacionados con el proyecto de investigación intitulado: “SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA EN *Candida* spp. AISLADAS DE MUCOSA ORAL DE PACIENTES INFECTADOS CON EL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) EN CUMANÁ, ESTADO SUCRE”.

2.- Tener conocimiento claro de que el objetivo del trabajo antes señalado es: Identificar especies de *Candida* fenotípicamente, en aislados de mucosa oral de pacientes con VIH,

ambulatorios, del HOSPITAL “ANTONIO PATRICIO DE ALCALÁ” en la ciudad de Cumaná, estado Sucre.

3.- Conocer bien el protocolo experimental expuesto por el investigador en el cual se establece que mi participación en el trabajo consiste en: donar de manera voluntaria la muestra, la cual será obtenida por el personal especializado y autorizado.

4.- Que la muestra que acepto donar será utilizada única y exclusivamente para estudio micológico.

5.- Que la persona que realiza esta investigación coordinada por la profesora Evis Parra me ha garantizado confidencialidad relacionada tanto a mi identidad como a cualquier otra información relativa a mi persona a la que tenga acceso por concepto de mi participación en el proyecto antes mencionado.

6.- Que bajo ningún concepto podré restringir el uso para fines académicos de los resultados obtenidos en el presente estudio.

7.- Que mi participación en dicho estudio no implica riesgos e inconveniente alguno para mi salud o la de mi representado.

8.- Que cualquier pregunta que tenga en relación a este estudio me será respondida oportunamente por parte del investigador antes mencionado, con quienes me puedo comunicar por el teléfono: 0412-6953063 con la Br. Andreína Del Valle Marcano Santos.

9.- Que bajo ningún concepto se me ha ofrecido ni pretendo recibir ningún beneficio de tipo económico producto de los hallazgos que pueda producirse en el referido proyecto de investigación.

APÉNDICE 3

DECLARACIÓN DEL VOLUNTARIO

Luego de haber leído, comprendido y aclarado mis interrogantes con respecto a este formato de consentimiento y por cuanto a mi participación es totalmente voluntaria, acuerdo:

1.- Aceptar las condiciones estipuladas en el mismo y a la vez autorizar al investigador a realizar el referido estudio en la muestra que acepto donar para los fines indicados anteriormente.

2.- Reservarme el derecho de revocar esta autorización y donación en cualquier momento sin que ello me conlleve algún tipo de consecuencia negativa para mi persona.

Firma del voluntario _____

Nombre y Apellido _____

Lugar y Fecha _____

Firma del testigo _____

Nombre y Apellido _____

C.I _____

Lugar y Fecha _____

APÉNDICE 4

DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR

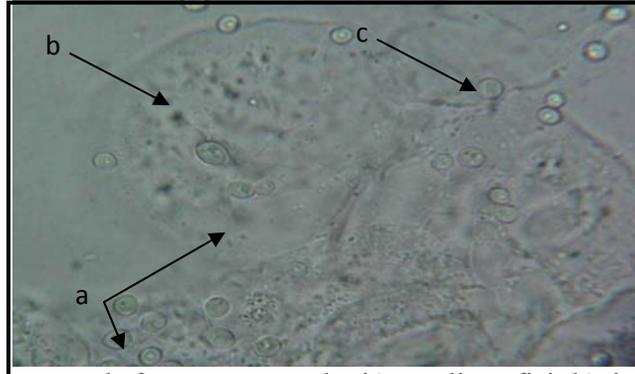
Luego de haber explicado al voluntario la naturaleza del protocolo mencionado, certifico mediante el presente que, a mi leal saber, el sujeto que firma este formulario de consentimiento comprende la naturaleza, requerimientos, riesgos y beneficios de la participación en este estudio. Ningún problema de índole médico, de idioma o de instrucción ha impedido al sujeto tener una clara comprensión de su compromiso con este estudio.

Por el Proyecto de “SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA EN *Candida* spp. AISLADAS DE MUCOSA ORAL DE PACIENTES INFECTADOS CON EL VIRUS DE INMUNODEFICIENCIA HUMANA (VIH) EN CUMANÁ, ESTADO SUCRE”.

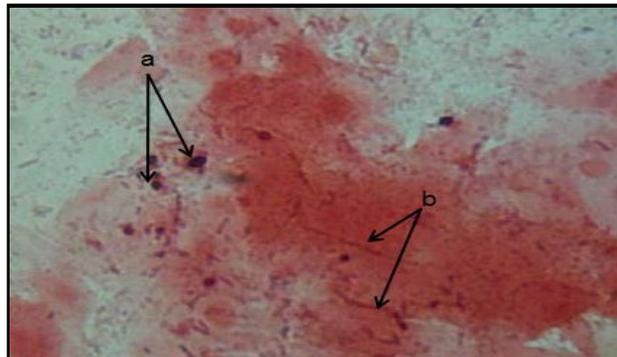
Nombre: _____

Lugar y Fecha: _____

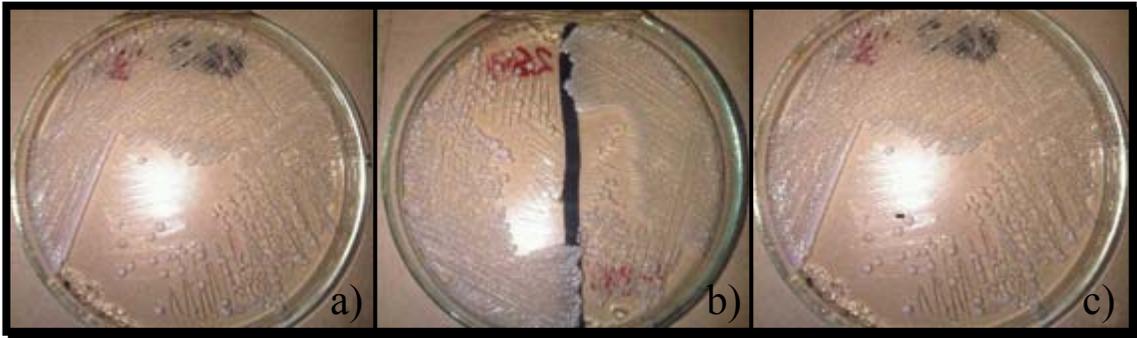
APÉNDICE 5



Apéndice 5.1. Examen al fresco con solución salina fisiológica estéril (40X): a) blastoconidias; b) pseudohifas; c) leucocitos.

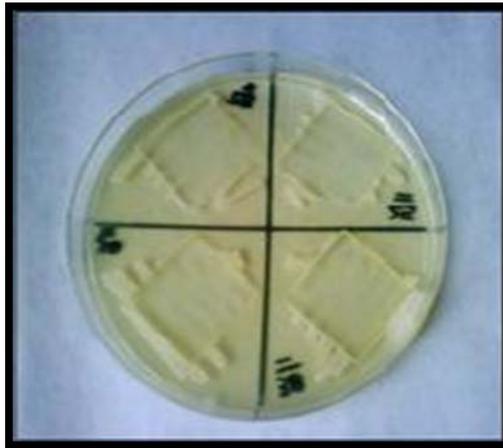


Apéndice 5.2 Examen al fresco con tinción de Gram (100X): a) levaduras teñidas como estructuras Gram positivas; b) pseudohifas.

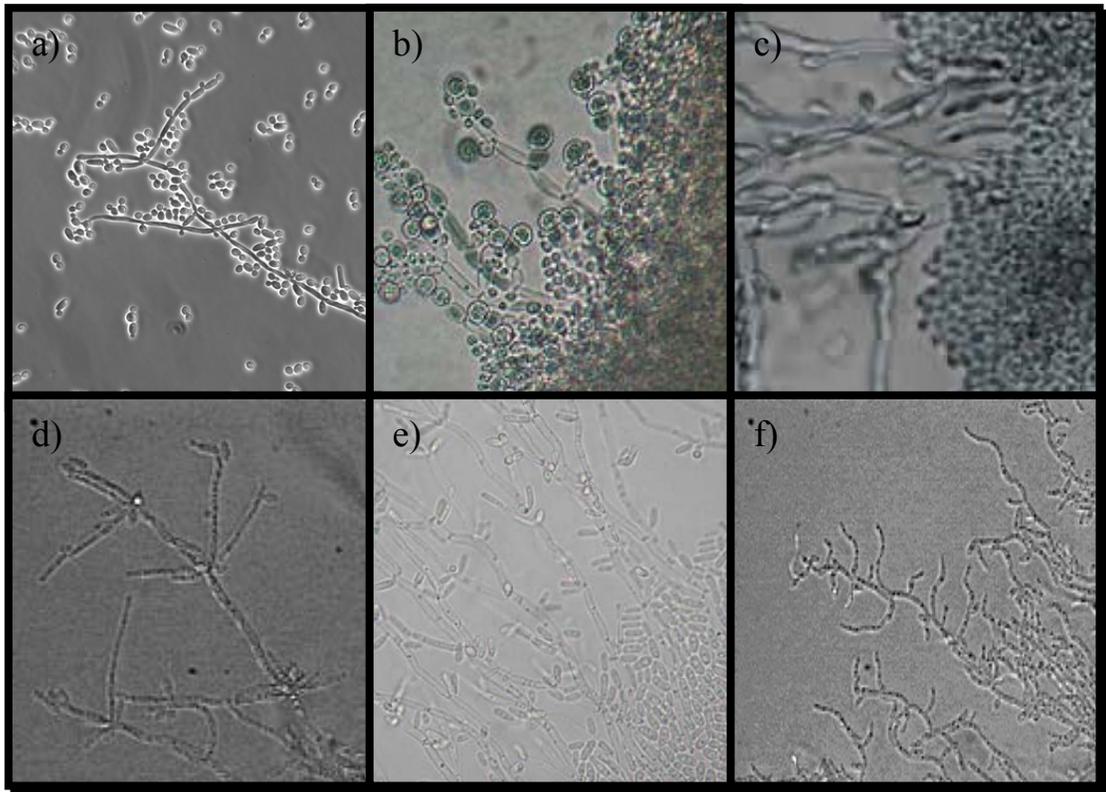


Apéndice 5.3 Colonias de especies de *Candida* en agar Sabouraud dextrosa: a) *C. albicans*; b) *C. lusitaniae*; c) *C. dubliniensis*.

APÉNDICE 6

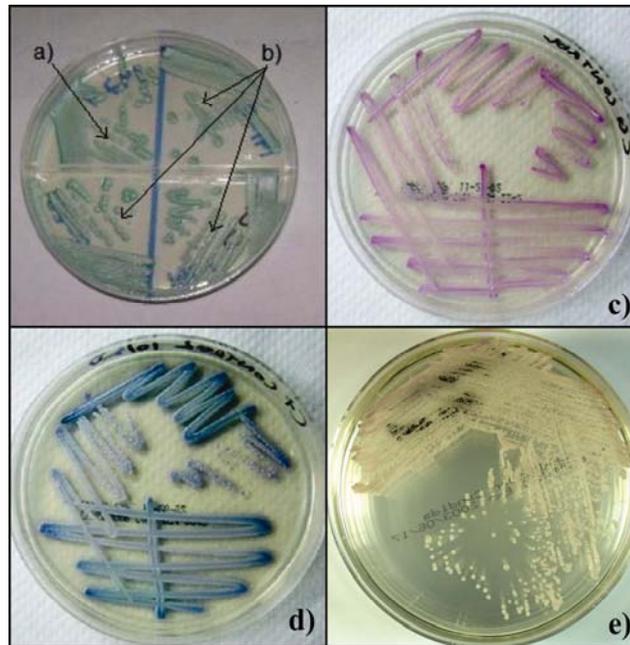


Apéndice 6.1. Técnica de Dalmau en placa con Corn Meal agar.

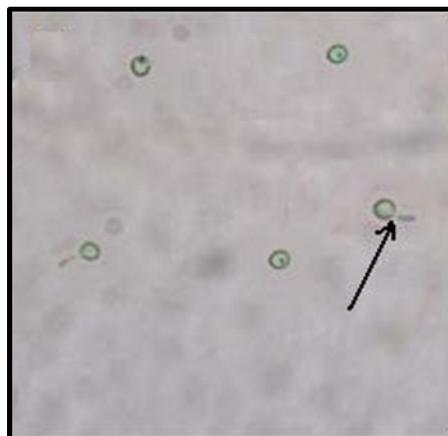


Apéndice 6.2. Cultivo de: a) *C. albicans*; b) *C. dubliniensis*; c) *C. lusitaniae*; d) *C. krusei*; e) *C. tropicalis*; f) *C. parapsilosis* en Corn Meal agar por la técnica de Dalmau, mostrando agrupamientos de blastoconidios dispuestos entre células de pseudohifas adyacentes (40X).

APÉNDICE 7

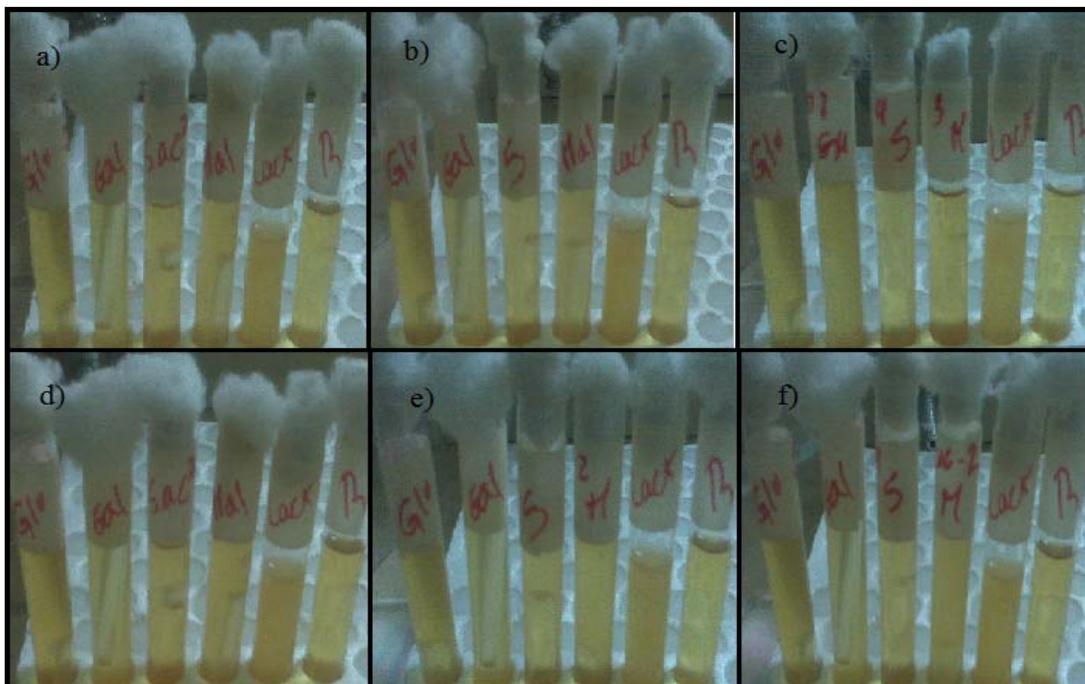


Apéndice 7.1. Placas con medio Chromatic *Candida*. Aislamientos de presuntivas: a) *C. dubliniensis*; b) *C. albicans*; c) *C. krusei*; d) *C. tropicalis*; e) *C. parapsilosis*.

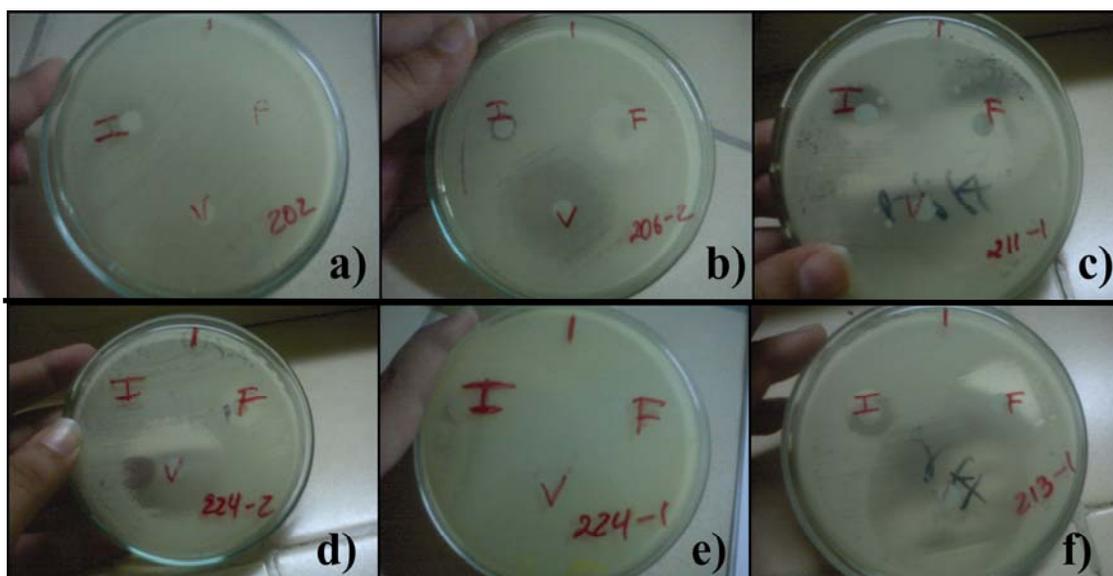


Apéndice 7.2. Prueba de filamentación en suero humano a 37°C: tubo germinal de *C. albicans* (40X).

APÉNDICE 8



Apéndice 8.1. Prueba de fermentación de azúcares (zimograma): a) *C. albicans*; b) *C. dubliniensis*; c) *C. krusei*; d) *C. lusitanae*; e) *C. tropicalis*; f) *C. parapsilosis*.



Apéndice 8.2. Suceptibilidad a azoles (fluconazol, voriconazol e itraconazol): a) *C. albicans*; b) *C. dubliniensis*; c) *C. krusei*; d) *C. lusitanae*; e) *C. tropicalis* y f) *C. parapsilosis*

Levadura	PSEUDOMICELO	R/ACTIDIONA	CREC. 37° C	CREC. 42° C	UREA	ASCAS	CREC. 45° C	KNO3	GLUCOSA
<i>C. albicans</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. dubliniensis</i>	+	-	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. famata</i>	+	+/-	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. glabrata</i>	-	+	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. guilliermondii</i>	+	+/-	+/-	+	-	-	+	-	+
<i>C. haemulonii</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. intermedia</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. kefyr</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. krusei</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. lusitanae</i>	+	-	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. pelliculosa</i>	+	-	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. pulcherrima</i>	+	-	+/-	+	-	-	+	-	+
<i>C. rugosa</i>	+	-	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. tropicalis</i>	+	+/- ^d	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. utilis</i>	+	+	+	+	-	-	+	-	+
<i>C. zeylanoides</i>	+	+	+/-	+	-	-	+	-	+
<i>Crypt. albidus</i>	-	-	+/-	-	+	-	-	-	+
<i>Crypt. laurentii</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Crypt. neoformans</i>	-	-	+	+	+	-	-	-	+
<i>Crypt. unguisatius</i>	-	-	+	+	+	-	-	-	+
<i>Geotrichum candidum</i>	+	-	+/-	-	-	-	-	-	+
<i>Rhodotorula glutinis</i>	+	-	+/-	-	-	-	-	-	+
<i>Rhodotorula minuta</i>	-	-	+/-	-	-	-	-	-	+
<i>Rhodotorula mucilaginosa</i>	-	-	+/-	-	-	-	-	-	+
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	-	-	+	+	+	+	-	-	+
<i>Trichosporon asahii</i>	+	+/-	+	-	-	-	-	-	+
<i>Trichosporon cutaneum</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	+
<i>Trichosporon inkin</i>	+	+/-	+	-	-	-	-	-	+
<i>Trichosporon mucoides</i>	+	+/-	+	-	-	-	-	-	+
<i>Yarrowia lipolytica</i>	+	+	+/-	-	-	-	-	-	+

Leyenda: +/-: positivo o negativo, +d: positivo débil, b: burbuja
Atlas of Clinical Fungi. 2da edición. CBS, Utrecht, The Netherla

HOJA DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	Sensibilidad Antifúngica en <i>Candida</i> Spp Aisladas de Mucosa Oral de Pacientes Infeccionados con el Virus De Inmunodeficiencia Humana (Vih) En Cumaná, Estado Sucre
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Marcano Santos, Andreina Del Valle	CVLAC	18.114.490
	e-mail	andrefield69@hotmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

SENSIBILIDAD ANTIFÚNGICA
<i>Candida spp</i>
VIH

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Ciencia	Micología

Resumen (abstract):

Se evaluó la prevalencia y susceptibilidad antifúngica *in vitro* de especies de *Candida* aisladas de mucosa oral de 86 pacientes infectados con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) de ambos sexos, con edades comprendidas entre 19 y 49 años que asistieron a la consulta de medicina interna del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” de Cumaná, estado Sucre. Se aislaron 69 levaduras entre los meses enero y abril 2011. La especie aislada con mayor frecuencia fue *C. albicans* (69,59%), otras especies no *albicans* fueron aisladas en menor porcentaje: *C. dubliniensis* (8,69%), *C. lusitaniae* (7,25%), *C. krusei* (7,25%), *C. tropicalis* (5,80%) y *C. parapsilosis* (1,45%). Fluconazol, itraconazol y voriconazol fueron los antifúngicos ensayados mediante el método de difusión en agar propuesto por el Comité Internacional de Estándares de Laboratorio Clínico (CLSI). La mayor resistencia a fluconazol estuvo constituida por especies no *albicans* (24,63%), por otro lado la mayor resistencia tanto a itraconazol (31,88%) como a voriconazol (52,17%) fueron de cepas identificadas como *C. albicans*. El 40,00% de las cepas de *C. albicans* provenientes de pacientes con tratamiento antimicótico fueron resistentes al fluconazol (resistencia secundaria). De acuerdo a estos resultados se puede concluir que fluconazol sigue siendo el antimicótico más eficaz contra *C. albicans*, mientras voriconazol para *Candida* no *albicans*. Igualmente, demuestran la importancia del aislamiento y la identificación de las especies de *Candida*, así como las pruebas de susceptibilidad *in vitro* para implementar un tratamiento adecuado en este grupo de pacientes.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Parra, Evis	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input checked="" type="checkbox"/> JU <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	eviespin@hotmail.com
	e-mail	
Centeno, Sara	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	sara.centeno@gmail.com
	e-mail	
Díaz, Josefa	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> JU <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	
	e-mail	diazvv@gmail.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

2013	05	08
------	----	----

Lenguaje: spa

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
TESIS_ANDRE.doc	Aplication/ Word

Alcance:

Espacial: **Nacional** (opcional)

Temporal: **Temporal** (opcional)

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciada en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado

Área de Estudio: Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado:

Universidad de Oriente

Hoja de metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CU N° 0975

Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI - 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.

UNIVERSIDAD DE ORIENTE
SISTEMA DE BIBLIOTECA
RECIBIDO POR *[Signature]*
FECHA 5/8/09 HORA 5:30

La publicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

[Signature]
JUAN A. BOLANOS CUNDELO
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

JABC/YGC/maruja

Apartado Correos 094 / Telfs: 4008042 - 4008044 / 8008045 Telefax: 4008043 / Cumaná - Venezuela

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009): “Los trabajos de grados son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y solo podrá ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Concejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Concejo Universitario, para su autorización”.



Autor

Marcano, Andreina



Asesor

Parra, Evis