

Guayaquil, 25 de Noviembre del 2015.

Señor Doctor.
Raúl Intriago López.
Director de la Escuela de Graduados
Facultad de Ciencia Médicas.

De mis consideraciones:

Por medio de la presente comunico a Ud. que he procedido a la revisión final del tema de tesis **"SEROTIPOS DE CANDIDA AISLADAS EN MUESTRAS DE HISOPADO BUCAL EN PACIENTES CON VIH/SIDA HOSPITAL REGIONAL "ISIDRO AYORA". LOJA, MAYO- JUNIO 2014"**, del egresado de la MAESTRIA EN MICROBIOLOGIA MENCION BIOMEDICA. Licenciado en la especialización de Laboratorio Clínico **ANGEL OMAR PACHECO POMA**, con cedula de identidad 1104074891 y tutoriada por el Dr. JUAN CARLOS RUIZ CABEZAS, del cual podemos afirmar que la misma cumple con los requerimientos exigidos por la Facultad de Ciencia Medicas, por lo cual la tesis esta lista para ser sustentada cuando lo disponga su autoridad

Atentamente.


Dr. Carlos Mosquera Martinez
Docente de la Facultad.

Continúa por el Dr. Intriago

25/11/15





UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS MEDICAS
ESCUELA DE GRADUADOS
TELEFAX: 042-288080
Guayaquil - Ecuador

OfEG#004-Antep

Enero 9 de 2015

Licenciado en Laboratorio Médico

Ángel Omar Pacheco Poma

MAESTRIA EN MICROBIOLOGÍA MENCIÓN BIOMÉDICA
Ciudad

Por medio del presente oficio comunico a usted, que su ANTEPROYECTO de investigación titulado:

"SEROTIPOS CANDA AISLADAS EN MUESTRAS DE HISOPADO BUCAL EN PACIENTES CON VIH/SIDA, HOSPITAL REGIONAL ISIDRO AYODA-LOJA MAYO-JULIO 2014".

Tutor: Dr. Juan Carlos Ruiz

Ha sido aceptado en aras de favorecer el proceso del trabajo de investigación se proceda a realizar con más de 100 casos.

Anteproyecto aprobado el día 19 de diciembre del 2014, por lo tanto puede continuar con la ejecución del Borrador de tesis.

Revisor: Dr. Carlos Mosquera Martínez

Atentamente


Dr. Guillermo Campuzano C.
DIRECTOR (E)

C. archivo

Revisado y Aprobado	Dr. Guillermo Campuzano
Revisado	Meda Guerrero V.

Yo, Juan Carlos Ruiz Cabezas, de nacionalidad ecuatoriana, con número de cédula 0908775307 Doctor en Medicina de la Universidad Católica de Guayaquil y actualmente docente de la Facultad de Medicina de la Universidad de Guayaquil.

CERTIFICO:

Que el texto de la Tesis presentado por el Licenciado en Laboratorio Clínico **Ángel Omar Pacheco Poma** con cédula de identidad **1104074891**, como requisito previo a la obtención del título de Magister en Microbiología mención Biomédica, cuyo tema es "SEROTIPOS DE CANDIDA AISLADAS EN MUESTRAS DE HISOPADO BUCAL EN PACIENTES CON VIH/SIDA HOSPITAL REGIONAL "ISIDRO AYORA". LOJA, MAYO- JUNIO 2014" ha sido revisado y aprobado.

Igualmente, quedo a su disposición, en caso de requerir más información.

Guayaquil, a 16 de noviembre del 2015.

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'JCR', with a long horizontal line extending to the right.

Dr. Juan Carlos Ruiz Cabezas M.D. M.Sc.
DOCENTE DE LA UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL



Ministerio
de Salud Pública

Coordinación Zonal 7 - SALUD,
HOSPITAL REGIONAL "ISIDRO AYORA"
UNIDAD DE ATENCION INTEGRAL A PVV



Loja, 16 de Noviembre del 2015

Dr. Jorge Yaruquí Carrión,

RESPONSABLE DE UNIDAD DE ATENCION INTEGRAL A
PERSONAS VIVIENDO CON VIH/SIDA
Hospital Regional "Isidro Ayora"

CERTIFICO:

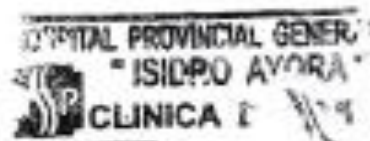
Que el Licenciado. Ángel Omar Pacheco Poma, egresado de la Universidad de Guayaquil de la Maestría de Microbiología mención Biomédica, acudió a esta Unidad, para realizar la recolección de muestras de hisopado bucal para el trabajo de tesis titulado "SEROTIPOS DE CÁNDIDA AISLADAS EN MUESTRAS DE HISOPADO BUCAL EN PACIENTES CON VIH/SIDA, HOSPITAL REGIONAL "ISIDRO AYORA" LOJA, MAYO- JUNIO 2014.

Es todo en cuanto puedo certificar.

Dr. Jorge Yaruquí Carrión
MSP- L 30 F 1 NP-1
QUITO, 15-X-1990
Edu. Nro. 997 C.N.E.L.

Dr. Jorge Yaruquí Carrión,

RESPONSABLE DE UNIDAD DE ATENCION INTEGRAL A PVV
HOSPITAL REGIONAL "ISIDRO AYORA"



Av. Manuel Agustín Aguirre y Juan José Samaniego
Teléfonos: 2570540 Ext. 7333
www.msp.gob.ec



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA DE GRADUADOS

TITULO:

**“SEROTIPOS DE CANDIDA AISLADAS EN MUESTRAS DE HISOPADO BUCAL EN
PACIENTES CON VIH/SIDA HOSPITAL REGIONAL “ISIDRO AYORA”. LOJA,
MAYO- JUNIO 2014”**

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARA OPTAR POR EL TITULO DE
MAGISTER EN MICROBIOLOGÍA, MENCIÓN BIOMÉDICA**

AUTOR:

LCDO. ANGEL OMAR PACHECO POMA

TUTOR:

DR. JUAN CARLOS RUIZ CABEZAS M. D. M. Sc.

AÑO:

2015

GUAYAQUIL – ECUADOR

Autoría

Yo, **Ángel Omar Pacheco Poma**, declaro ser autor del presente trabajo de tesis titulado “SEROTIPOS DE CANDIDA AISLADAS EN MUESTRAS DE HISOPADO BUCAL EN PACIENTES CON VIH/SIDA HOSPITAL REGIONAL “ISIDRO AYORA”. LOJA, MAYO- JUNIO 2014” y eximo expresamente a la Universidad de Guayaquil y sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad de Guayaquil, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autor: Lcdo. Angel Omar Pacheco Poma

Cédula: 1101074891

Dedicatoria

La presente tesis, está dedicada principalmente a Dios y a la Santísima Virgen del Cisne, por haberme dado la vida y permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres Ángel y Nancy por el apoyo incondicional que me brindan día a día, por sus sabios consejos que me han permitido ser una persona de bien, pero más que nada, por su amor, de igual manera a mi hermano Wilman Patricio y su familia por su incondicional apoyo y comprensión.

Un agradecimiento especial también todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración de esta tesis.

Ángel Omar.

Agradecimiento

Mi gratitud y reconocimiento sincero a las Autoridades y Docentes de la Universidad de Guayaquil, Facultad de Ciencia Medicas, Escuela de Graduados, por los conocimientos, sabios consejos y ejemplos que me impartieron durante toda mi formación profesional.

De manera especial al Dr. Juan Carlos Ruiz Cabezas M. D. M. Sc. Director de tesis por su apoyo brindado en la cristalización de la presente tesis y tan acertada dirección de la misma.

A los directivos y planta medica de la Clínica del VIH, Loja por haber facilitado la información necesaria para la realización de la tesis y en general a todas las personas que han colaborado en el desarrollo de la misma.

El Autor.

Resumen

La investigación se realizó para identificar los serotipos de *Cándida*, causantes de Candidiasis oral una infección micótica oportunista en personas con VIH/SIDA, frecuentemente causada por *Cándida albicans* considerándose como la más patógena, sin embargo especies de *cándidas* no *albicans* suelen ser menos sensibles a los azoles y pueden ser más virulentas. En la actualidad es importante el diagnóstico oportuno porque va en aumento la aparición de cepas menos sensibles a los antimicóticos. De todas las especies de *Cándida*, la más patógena para el hombre es la *Cándida albicans*, aunque también se han descrito otras como *Cándida glabrata*, *Cándida tropicalis*, *Cándida parapsilosis*, *Cándida dubliniensis*, como patógenos oportunistas en la cavidad oral en los pacientes con VIH y SIDA. El objetivo general fue identificar los serotipos de *Cándida* aisladas en pacientes con VIH/SIDA, Hospital Regional “Isidro Ayora”. Ciudad de Loja, mayo – julio 2014. El trabajo investigativo fue de carácter exploratorio, descriptivo, prospectivo; realizado con un total de 115 personas de los cuales 1 caso corresponde a VIH y 114 casos de SIDA. Para identificar los serotipos de *Cándida* se realizaron cultivos en Agar Dextrosa Sabouraud-Cloranfenicol y cultivos mediante agotamiento de estrías en CHROMAgar *Cándida*, para identificar los serotipos de *Cándida* presentes en la muestras y se confirmaron mediante Espectrometría de Masas (MALDI-TOF). Se obtuvo como resultado un 27% (31 cultivos) de casos positivos para crecimiento de *Cándida* y un 73% (84 cultivos) de casos negativos en Agar Dextrosa Sabouraud-Cloranfenicol. Los casos positivos se cultivaron en CHROMAgar *Cándida* para identificar los serotipos de *Cándida* obteniendo como resultados 74% (23 casos) de *Cándida albicans* constituyéndose el serotipo más frecuente, seguido de los siguientes serotipos en menor frecuencia *Cándida glabrata* 13% (4 casos), *Cándida krusei* 3% (1 caso), *Cándida guilliermondii* 3% (1 caso), *Cándida parapsilosis* 3% (1 caso) y *Cándida pararugosa* 3% (1 caso).

Palabras claves: Candidiasis, *Cándida albicans*, patógenos oportunistas, VIH, SIDA, cultivos, serotipos.

Abstract

The research is conducted to identify *Candida* serotypes that cause oral candidiasis an opportunistic fungal infection in people with HIV / AIDS, frequently caused by *Candida albicans* regarded as the most pathogenic, however non-*albicans* *Candida* species are usually less sensitive to and azoles may be more virulent. Today early diagnosis is important because it is increasing the appearance of less sensitive to antifungal strains. Of all the species of *Candida*, the most pathogenic to humans it is *Candida albicans*, although they have also described other as *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis*, as opportunistic pathogens in the oral cavity in patients with HIV and AIDS. The overall objective was to identify the serotypes of *Candida* isolated in patients with HIV / AIDS, Regional Hospital "Isidro Ayora" in the city of Loja, from May to July 2014. The research work was exploratory, descriptive, prospective; made a total of 115 people including 1 case to HIV and 114 AIDS cases. To identify serotypes of *Candida* cultures in Sabouraud Dextrose Chloramphenicol Agar and cultures were performed by depletion of stretch marks on CHROMagar *Candida*, to identify *Candida* serotypes present in the samples and were confirmed by mass spectrometry (MALDI-TOF). It was obtained as a result 27% (31 crops) of positive cases *Candida* growth and 73% (84 cultures) negative cases Chloramphenicol Agar Sabouraud Dextrose. Positive cases were cultured in CHROMagar *Cándida* to identify the serotypes of *Candida* obtaining as a result 74% (23 cases) of *Candida albicans* becoming the most common serotype, followed by the following serotypes in less frequency *Cándida glabrata* 13% (4 cases), *Cándida krusei* 3% (1 case), *Candida guilliermondii* 3% (1 case), *Candida parapsilosis* 3% (1 case) and *Candida pararugosa* 3% (1 case).

Keywords: Candidiasis, *Candida albicans*, opportunistic pathogens, HIV, AIDS, crop serotypes.

Tabla de Contenidos

Caratula.....	i
Autoría.....	ii
Dedicatoria.....	iii
Agradecimiento.....	iv
Resumen.....	v
Abstract.....	vi
Tabla de Contenidos.....	7
Lista de tablas.....	10
Lista de Figuras.....	11
1. Introducción.....	12
2. Objetivos e Hipótesis.....	16
2.1.1. Objetivo General.....	16
2.1.2 Objetivos Específicos.....	16
2.2. Hipótesis.....	16
2.2.1. Variables dependientes.....	16
2.2.2. Variables independientes.....	16
1. Marco Teórico	
Capítulo I.....	17
3.1 Micosis.....	17
3.1.1 Clasificación.....	17
3.1.1.1 Micosis superficiales.....	17
3.1.1.2 Micosis Subcutáneas.....	18
3.1.1.3 Micosis sistémicas.....	18
3.1.1.4 Micosis oportunistas.....	20
3.1.2 Factores de virulencia.....	21
3.1.3 Respuesta inmune a Cándida.....	22
3.1.3.1 Respuesta de la inmunidad innata del huésped.....	22
3.1.3.2 Respuesta de la inmunidad adaptativa del huésped.....	25
Capítulo II.....	27
3.2 Candidiasis.....	27

3.2.1 Generalidades.....	27
3.2.2. Taxonomía.....	27
3.2.3 Etiología.....	28
3.2.4. Epidemiología.....	28
3.2.5. Especies de Cándida de importancia médica.....	29
3.2.6. Patogenia.....	34
3.2.7 Clínica.....	34
Capítulo III.....	37
3.3 Candidiasis y VIH/SIDA.....	37
3.3.1 Historia del SIDA.....	38
3.3.2 Epidemiología del VIH.....	39
3.3.3. Sistema de clasificación para infecciones por VIH.....	41
3.3.4 Candidiasis oral en pacientes con infección por VIH.....	44
Capítulo IV.....	46
3.4 Pruebas de identificación para Cándida.....	46
3.4.1 Pruebas macroscópicos.....	46
3.4.2 Pruebas microscópicas:	47
3.4.2.1 Prueba del tubo germinal.....	47
3.4.3 Identificación mediante pruebas bioquímicas.....	49
3.4.3.1 Pruebas bioquímicas enzimáticas: Medios cromogénicos.....	49
3.4.3.1.1. CHROMagar Cándida.....	49
3.4.3.2 Detección de enzimas	50
3.4.3.2.1 Prueba de ureasa.....	50
3.4.3.2.2 Actividad de fenol-oxidasa:	50
3.4.3.3 Identificación basada en métodos de asimilación de nutrientes.....	50
3.4.3.3.1. AUXACOLOR:	50
3.4.3.3.2. Medios de cultivo base.	51
3.4.3.3.3. Sistema UNI-YEAST-TEK.....	51
3.4.3.4 Sistemas semiautomáticos y sistemas automáticos.....	52
3.4.3.4.1 Sistemas semiautomáticos.....	52
3.4.3.4.2 Métodos Automatizados.....	52
3.4.3.5. Identificación mediante criterios inmunológicos.....	54
3.4.3.6. Estudios de Biología Molecular.....	55

4. Materiales y Métodos.....	56
5. Resultados y Discusión.....	61
6. Conclusiones.....	69
7. Recomendaciones.....	70
8. Bibliografía.....	71
9. Anexos.....	80

Lista de tablas

Tabla 1: Cultivos realizados: resultados positivos en relación a casos negativos.....	61
Tabla 2: Serotipos de Cándida bucal identificados.....	62
Tabla 3: Casos de Cándida según edad.....	63
Tabla 4: Casos de Cándida según sexo.....	64
Tabla 5: Casos de Cándida según CD4.....	65

Lista de figuras

Figura 1: Respuesta inmune innata, PRR involucrados en el reconocimiento de <i>Cándida albicans</i>	24
Figura 2: Respuesta inmune adaptativa, células dendríticas.....	25
Figura 3: Respuesta inmune adaptativa macrófagos.....	26
Figura 4: Respuesta inmune adaptativa células epiteliales.....	26
Figura 5: Sistema de clasificación para infecciones de VIH en adultos y adolescentes mayores de 13 años de edad.....	41
Figura 6: Cultivos realizados: resultados positivos en relación a casos negativos.....	61
Figura 7: Serotipos de <i>Cándida</i> bucal identificados.....	62
Figura 8: Casos de <i>Cándida</i> según edad.....	63
Figura 9: Casos de <i>Cándida</i> según sexo.....	64
Figura 10: Casos de <i>Cándida</i> según CD4.....	65

Introducción

En general las enfermedades infecciosas clásicas han disminuido en casi todo el mundo, sin embargo las infecciones micóticas han aumentado de manera constante. En Estados Unidos las micosis es la séptima causa de muerte; siendo una de causas principales la candidiasis y la aspergilosis. Las infecciones micóticas afectan principalmente a individuos que se encuentran con su sistema inmune comprometido.

Las infecciones oportunistas de la cavidad bucal como la candidiasis orofaríngea se ha convertido en la infección oportunista más frecuente en pacientes con virus de inmunodeficiencia humana (VIH) y síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), el 90% de las personas con SIDA afectadas con Candidiasis orofaríngea llegan a desarrollar lesiones bucales, la candidiasis bucal puede propagarse hacia el aparato respiratorio en los enfermos VIH positivos, siendo causada frecuentemente por *Cándida albicans*.

La *Cándida albicans* se considera como la más patógena, sin embargo especies de cándidas no albicans suelen ser menos sensibles a los azoles y pueden ser más virulentas. En la actualidad es importante el diagnóstico oportuno porque va en aumento la aparición de cepas menos sensibles a los antimicóticos.

La presente investigación se llevó a cabo en la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA del Hospital Regional “Isidro Ayora” de la ciudad de Loja. En el período de mayo a junio de 2014. Es una investigación de carácter descriptiva, prospectiva. El universo de estudio incluyó las muestras de todos los pacientes con VIH y los pacientes considerados como SIDA, según clasificación del CDC (MSP, Guía De Atención Integral VIH/SIDA, 2010) tanto a los personas ambulatorios y hospitalizados que

se encuentran registrados como activos (personas que asisten a controles médicos y se encuentran tomando tratamiento antirretroviral) en la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA, durante el período de estudio señalado.

Se empleó el método inductivo en la observación directa; el método deductivo que ayudo a determinar los hechos más importantes con respecto a la problemática para así poder comprobar la hipótesis.

Las técnicas empleadas fueron de tipo documental y de campo. Dentro de las técnicas de tipo documental que se utilizaron fueron el fichaje y lectura científica en la recopilación bibliográfica, mediante fichas textuales de resumen y mixtas, y las técnicas de campo utilizadas fueron la observación, entrevistas y encuestas mediante una hoja de recolección de datos diseñada para el efecto. (Ver anexo 1)

Para identificar los serotipos de *Cándida* se realizaron cultivos en Agar Dextrosa Sabouraud-Cloranfenicol y cultivos mediante agotamiento de estrías en CHROMAgar *Cándida*, para identificar los serotipos de *Cándida* presentes en la muestras y se confirmaron mediante Espectrometría de Masas (MALDI-TOF)

Justificación

El Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) es un proceso patológico detectado por vez primera en los Estados Unidos de América en 1981. El SIDA se considera como epidémico, por su transmisión se extiende a otras partes del mundo y actualmente es un grave problema de salud pública. La infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH) se caracteriza principalmente por provocar una reducción progresiva del número de linfocitos T CD4+, hasta llegar a su total depleción. Esta depleción tiene como consecuencia una alteración y disminución de la inmunidad

celular en los pacientes afectados, produciendo un incremento de las infecciones oportunistas como la micosis.

En pacientes con VIH y SIDA la Candidiasis orofaríngea es la infección oportunista más común en estadios iniciales y finales de la enfermedad, presentándose en un 75% de los pacientes infectados, la que ocurre principalmente cuando el número de linfocitos TCD4+ es inferior a 500 cel/mcl. (Choappa, 2013). Las infecciones oportunistas de la cavidad orofaríngea en un 90% causan lesiones bucales, siendo la *Cándida albicans* el patógeno que se identifica más frecuentemente en estos pacientes y en menor frecuencia se identifican otras especies clínicamente importantes como la *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei*, *Candida pseudotropicalis* y *Candida guilliermondi*.

La motivación para realizar esta investigación es conocer más del problema sobre la presencia de serotipos de *Cándida* aisladas en muestras de hisopado bucal en pacientes con VIH/SIDA Hospital Regional “Isidro Ayora”. Loja; para ello se estructuraron los objetivos específicos que tienen la finalidad de: 1. Recuperar y aislar las cepas de *Cándida* en los pacientes infectados por el virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH/SIDA). 2. Determinar los serotipos de las cepas aisladas de *Cándida* de las personas en estudio. 3. Establecer relación del serotipo de *Cándida* aislada con tratamientos previos de antimicóticos e índice de carga viral registrados en las historias clínicas de los pacientes en estudio.

Planteamiento del Problema

El presente estudio se realizó en Loja, ciudad del Ecuador, capital de la provincia y cantón Loja, localizada en el sur del país. En el Hospital Regional “Isidro Ayora” en la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA, realizado en los pacientes con VIH y pacientes con SIDA, durante los meses de Mayo a Junio 2014.

La candidiasis es considerada como un marcador temprano de VIH, pero la infección puede presentarse en cualquier fase de la enfermedad, (Palacios, 2011) En estos pacientes se ha reportado una prevalencia de candidiasis del 30 al 90 %.

La candidiasis bucal se presenta, habitualmente, bajo la forma pseudomembranosa, conocida en nuestro medio como "muguet". La *Cándida* en los pacientes inmunosuprimidos frecuentemente causa lesiones, las cuales tienen una tendencia recidiva muy marcada. Si bien su aspecto clínico es muy característico, el diagnóstico debe ser siempre confirmado por el estudio micológico, ya que pueden confundirse con infecciones bacterianas, lesiones herpéticas y la leucoplasia vellosa producida por el virus de Epstein-Barr.

La Candidiasis es la infección micótica intraoral más común en pacientes infectados con VIH, la causa más frecuente de estas infecciones es la *Cándida albicans*, que es el patógeno que frecuentemente se identifica en estos pacientes, sin embargo hay otras especies clínicamente importantes incluyen *Cándida tropicalis*, *Cándida parapsilosis*, *Cándida krusei*, *Cándida pseudotropicalis* y *Cándida guilliermondii*.

En la actualidad, se observa el aumento de la aparición de cepas menos sensibles a los antimicóticos y adicionalmente, otras especies como *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. krusei* se reportan como patógenos oportunistas en la cavidad oral en los pacientes con VIH y SIDA (Prieto, 2006).

Con el presente trabajo se determinó la presencia de los serotipos de *Cándida* bucales circulantes en pacientes con VIH/SIDA, en el Hospital Regional "Isidro Ayora" de la ciudad de Loja, en el periodo mayo julio 2014.

2. Formulación de Objetivos Generales y Específicos

2.1 Objetivos

2.1.1. Objetivo General.

Identificar los serotipos de *Cándida* aisladas en pacientes con VIH/SIDA, Hospital Regional “Isidro Ayora”. Ciudad de Loja, mayo – julio 2014

2.1.2. Objetivos Específicos

2.1.2.1. Recuperar y aislar las cepas de *Cándida* en los pacientes infectados por el virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH/SIDA)

2.1.2.2. Determinar los serotipos de las cepas aisladas de *Cándida* de las personas en estudio.

2.1.2.3. Establecer relación del serotipo de *Cándida* aislada con niveles de CD4 registrados en las historias clínicas de los pacientes en estudio.

2.2 Hipótesis

En los hisopados bucales de los pacientes con VIH/SIDA, la *Cándida albicans* se presenta en un 40% de los casos.

2.2.1. Variables dependientes

1. *Cándida*.
2. Serotipos de *Cándida*.

2.2.2. Variables Independientes

1. Edad.
2. Sexo.
3. Pacientes con VIH
4. Pacientes con SIDA.
5. Niveles de CD4.

3 Marco Teórico

3.1 Micosis

Las micosis son aquellas patologías producidas por la invasión sistémica de hongos en el cuerpo, las cuales se presentan de distintas formas y que llegan a afectar diferentes áreas corporales.

Tomando en cuenta el grado de profundidad anatómica que afecte el hongo (Sánchez, 2008), las micosis se clasifican en tres grupos:

- 1) superficiales;
- 2) subcutáneas, y
- 3) profundas o sistémicas.

3.1.1 Clasificación

3.1.1.1 Micosis superficiales.

Las micosis superficiales son aquellas adquiridas por contacto y que afectan a la capa córnea de la piel, a la porción supra-folicular del pelo y uñas. Esta micosis afecta a los tejidos inertes, por lo que el huésped no produce una respuesta inmunitaria. Esta micosis puede ser crónica y resistente a los tratamientos pero rara vez afectan la salud general del enfermo, y no invaden tejidos profundos.

Entre los hongos que causan este tipo de infección están los dermatofitos, que atacan la capa córnea de piel y faneras, entre los que existen tres especies de importancia: *Trichophyton spp*, *Microsporum spp* y *Epidermophyton spp*, y causan entre otras micosis, la tiña y el pie de atleta. Además otros dermatofitos afectan la porción extra folicular del pelo de cuero cabelludo, formando nódulos duros e irregulares a su alrededor, formados por agregados fúngicos, y que son visibles a simple vista. Entre los agentes causales de

estos nódulos están los producidos por el ascomiceto *Piedraia hortae* que produce piedra negra, cuyos nódulos son duros, negros y brillantes que afecta principalmente al cabello. El *Trichosporon beigelii* causa piedra blanca en la cual los nódulos son blanquecinos y atacan pelos del cuero cabelludo, barba, bigote y pubis.

Existen hongos que atacan la epidermis, por ejemplo *Malassezia furfur* que causa la pitiriasis versicolor y *Exophiala wernecki* que produce pitiriasis versicolor, la dermatitis seborreica, la tinea nigra, la piedra blanca y la piedra negra. (Acosta, 2014) Algunas especies pueden localizarse en piel, mucosas y uñas, como los hongos del género *Cándida*.

3.1.1.2 Micosis Subcutáneas

Son infecciones del tejido subcutáneo afectando a las capas profundas de la dermis y tejido celular subcutáneo pudiéndose extenderse a músculo y hueso tienden a ser localizadas y rara vez diseminan por vía hematógena. Estas micosis son producidas por hongos que viven en el suelo o en la vegetación en descomposición, y deben ser introducidos al tejido subcutáneo a través de inoculación traumática de material punzante contaminado, por lo que también es conocida como micosis de implantación.

La esporotricosis es la micosis subcutánea más común e importante causada por el hongo *Sporothrix schenckii*, que vive en las plantas o en la madera y provoca una infección granulomatosa crónica cuando se introduce en forma traumática debajo de la piel.

3.1.1.3 Micosis sistémicas

Las infecciones micóticas sistémica o profundas son enfermedades producidas por hongos dimórficos, que viven en forma filamentosa en el ambiente de áreas geográficas definidas, que forman parte de la microflora ambiental o son comensales de la piel o

mucosas, ingresan al cuerpo por inhalación a un sitio profundo como mucosas o un órgano interno como el pulmón, tracto gastrointestinal o los senos paranasales, cuyo mecanismo de diseminación es por vía linfo-hemática, con afección uni o multiparenquimatosa. Habitualmente son eliminadas por los leucocitos polimorfonucleares y macrófagos, pero cuando hay una alteración de la inmuno respuesta del huésped, puede desarrollarse el cuadro clínico que, dadas las características del huésped, provocan una afección general y en ocasiones estas resultan mortales. (Rubio, 2001)

El agente etiológico puede ser cualquier especie fúngica capaz de crecer a 37 °C y cuyos requerimientos nutricionales estén contemplados en los tejidos del huésped: levaduras, hongos miceliares moniliales o dematiáceos, ascomicetos, basidiomicetos y zigomicetos. Los agentes causales de estas micosis no producen toxinas por lo general; la reacción típica que causan en los tejidos es un granuloma crónico, que es un tumor de tejido inflamatorio, con grado variable de necrosis y formación de abscesos.

Siendo los más frecuentes *Candida spp.*, *Cryptococcus spp.*, *Blastoschizomyces capitatus*, *Trichosporon asahi*, *Aspergillus spp.*, *Fusarium spp.*, *Scedosporium spp.*, *Mucorspp.*, *Rhizopus spp.*, así como otros géneros de las familias Moniliaceae y Dematiaceae. (Rubio 2001).

Las infecciones sistémicas se clasifican de acuerdo a la capacidad infectiva del hongo causante en dos grupos:

1. Micosis sistémicas por hongos verdaderos (patógenos primarios) son en general producidas por hongos dimorfos: forma de mohos (con hifas septadas y conidias) y otra forma habitualmente de levadura (en tejidos vivos), producen infección en huéspedes con situación inmunológica normal. Entre los principales se encuentran *Paracoccidioidomycosis*, *Histoplasmosis*, *Coccidioidomycosis* y *Blastomycosis norteamericana*. (Sánchez, 2010). La coccidioidomycosis, causada por el hongo

coccidioides immitis y *coccidioides posadasii*, que se adquiere por inhalación y provoca una infección respiratoria que puede ser asintomática o bien presentar síntomas similares a la gripe, con fiebre, malestar general, tos, dolores en todo el cuerpo. En menos del 1% de los infectados, la infección progresa a la forma diseminada altamente mortal. (Sánchez, 2010)

2. Las micosis sistémicas oportunistas afectan principalmente a pacientes inmunosuprimidos o enfermedades graves como el SIDA y en personas que presentan neutropenia asociada a una enfermedad maligna, o que son sometidos a trasplante de órganos o cirugías extensas.

3.1.1.3.1. Micosis oportunistas

Las micosis oportunistas son producidas generalmente por hongos ambientales (*Aspergillus spp.* *Fusarium spp.* *Zigomycetes* entre otros) u hongos que pertenecen a la propia flora (*Candida spp.* *Malassezia spp.*), que por lo general no inducen enfermedad, pero si en las personas que tienen alterado su sistema inmunológico.

Las micosis oportunistas más importantes en los seres humanos son la candidiasis sistémica o profunda, aspergilosis diseminada, criptococosis y la cigomicosis sistémicas. (Sánchez, 2010). Las manifestaciones clínicas de las micosis sistémicas oportunistas también son variables, dependiendo del sitio de entrada del microorganismo y de la enfermedad subyacente.

Frecuentemente, en las micosis oportunistas la *Cándida albicans* es el agente causal más común, que puede presentarse en el aparato digestivo después de la administración oral de antibióticos pero por lo general no provoca síntomas. Puede ser transportada por la sangre a muchos órganos, incluyendo las meninges, pero en general no está capacitada

para establecerse por sí misma excepto en un huésped muy debilitado. Puede provocar diseminación y septicemia en enfermos con alteración en la inmunidad celular por ejemplo en los enfermos de SIDA, o los que reciben terapia anticancerosa o los que padecen linfomas.

3.1.2 Factores de virulencia

El incremento de las infecciones micóticas en los seres humanos se debe principalmente al estado de inmunodepresión del huésped. Para establecer una infección, los patógenos oportunistas deben tanto evadir la respuesta inmune del hospedero, poder sobrevivir y dividirse en el hospedero, esto depende de ciertos factores de virulencia, que les facilita invadir tejidos y causar enfermedad.

Entre los factores de virulencia más importantes se encuentran los siguientes:

- El tamaño del microorganismo.
- La capacidad del microorganismo para crecer a 37°C en un pH neutro.
- El dimorfismo de los hongos, es decir cambiar de forma filamentosa a la correspondiente levaduriforme dentro del huésped.
- La producción de toxinas. (Koneman, 2009)

Algunas levaduras de *Cándida spp* colonizan y/o causan enfermedades en diferentes lugares corporales como la piel, cavidad oral, esófago, tracto gastrointestinal, órganos reproductores y sistema vascular.

En infecciones por *Cándida spp* la adherencia a los tejidos del huésped, la respuesta a cambios ambientales (cambios de pH y temperatura) y la secreción de hidrolasas son consideradas como factores importantes en la virulencia de esta micosis. Los factores de virulencia expresados o requeridos por el género *Cándida* y en particular *C. albicans* para

causar infecciones varían dependiendo del sitio, etapa y tipo de infección (mucosa o sistémica), así como de la naturaleza de la respuesta del huésped.

3.1.3 Respuesta inmune a Cándida.

Los mecanismos de defensa contra la mayoría de los hongos actúan de manera coordinada para inhibir su proliferación o eliminarlos, esos procesos se realizan entre los fagocitos polimorfonucleares que son considerados como la primera línea de defensa y la inmunidad celular que libera sustancias que potencian la acción de las células encargadas de los procesos de fagocitosis y la eliminación del microorganismo.

Las infecciones por Cándida suelen comenzar en las superficies de las mucosas; por lo cual la primera línea de defensa del hospedero frente a las especies de Cándida se encuentra en las mucosas, en estas se incluyen un conjunto importante de proteínas salivales, tales como la lactoferrina e Inmunoglobulina A, estas dificultan la adhesión y el crecimiento de Cándida en la cavidad orofaríngea. La mucosa bucal desempeña un papel imprescindible en la defensa de hospedero frente a infecciones por Cándida, cuando esta mucosa presenta alteraciones el hospedero tiene mayor posibilidad de padecer candidiasis orofaríngea. Las células epiteliales también secretan IL-8 y factores estimulantes de colonia granulocíticas como respuesta de aumento de la colonia de Cándida en la mucosa. Tras superar la acción de estas proteínas y la acción de las células epiteliales empieza la infección invasora por Cándida.

3.1.3.1 Respuesta de la inmunidad innata del huésped.

Como primera respuesta del hospedero después de la intervención de la mucosa, el endotelio vascular secreta mediadores proinflamatorios y péptidos antimicrobianos como las defensinas, que actúan al estimular la selección y la activación de los leucocitos. Una

vez atravesada las barreras mucocutáneas los neutrófilos y los monocitos son las células que actúan fagocitando a los microorganismos invasores, como respuesta del hospedero frente a la infección.

El tamaño de *Cándida* puede dificultar la fagocitosis del hongo, para la cual los componentes extracelulares marcaran al patógeno y favorecer su ingestión y destrucción, proceso conocido como opsonización.

Los macrófagos, neutrófilos y células dendríticas pueden reconocer y unirse al patógeno mediante los receptores reconocedores de patrones (RRP). Estos receptores reconocen una serie de patrones moleculares comunes presentes en los microorganismos patógenos conocidos como patrón molecular asociado a patógenos (PMAP). Los PMAP presentan características como especificidad de microorganismos patógenos y no se encuentran en las células del hospedero, son invariables entre especies, y son esenciales para la supervivencia o patogenicidad del microorganismo por lo que permanecerá invariable y podrá ser reconocida por los RPR.

Los RRP son proteínas transmembrana tipo I, los más importantes en el reconocimiento de la *Cándida spp*, por los neutrófilos y monocitos son los Toll like receptors (TLR, receptor tipo toll), los receptores de manosa y la dectina-1.

Estos TLR se unen al patógeno través de un dominio extracelular, y un dominio citoplasmático activara el receptor. Estos receptores interaccionan con proteínas como la MyD88 que actúa como regulador, y activan una serie de factores de transcripción que van a producir citoquinas pro o antiinflamatorias, por consecuencia activan los macrófagos en la respuesta inmune adaptativa. Hasta el momento se conocen diez tipos diferentes de TRL que se reconocen PMAP, los TRL más importantes en la respuesta frente a *Cándida spp* son el TRL2 que reconoce el fosfolipomanano (PMAP) de la pared del hongos, el cual se asocia con la respuesta Th2 y TRL4 que se une al manano y facilita la respuesta

mediada por células Th1. Además el TLR9 está implicado en la respuesta frente a la infección por *Cándida spp*, al reconocer el ADN del hongo. (Ver Gráfico 1)

Los receptores de manosa tienen gran importancia en la epidermis humana al actuar como defensa frente a las infecciones mucocutáneas, al permitir el reconocimiento y fagocitosis de *Cándida spp*. que no han sido opsonizadas previamente. La dectina-1 favorece la maduración de las células dendríticas, monocitos y macrófagos, así como la activación de citoquinas como la IL-2 y la IL-10 al unirse a los beta-glucanos. Para lograr una óptima respuesta inmune, la dectina-1 según su activación estimula la respuesta de TLR1 o la mediada por el TLR4.

Algunos receptores de manosa pueden activar TLR2, y el propio TLR2 inhibe el TLR4, y así sucesivamente. Como consecuencia final de todos estos procesos, se activara la respuesta inmunitaria adaptativa y procesos oxidativos que generan radicales libres de oxígeno y nitrógeno, y los procesos no oxidativos, dirigidos a producir la muerte de *Candida spp* .(García, 2012)

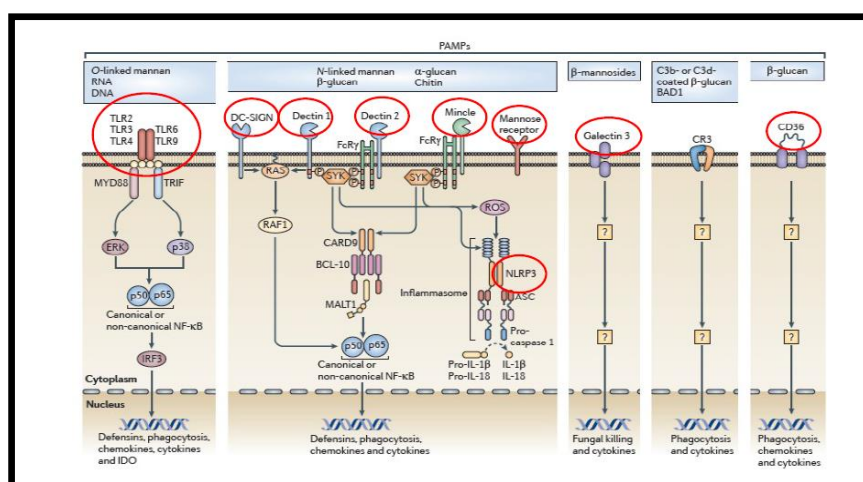


Gráfico 1. Respuesta Inmune Innata, PRR involucrados en el reconocimiento de *Cándida albicans*.

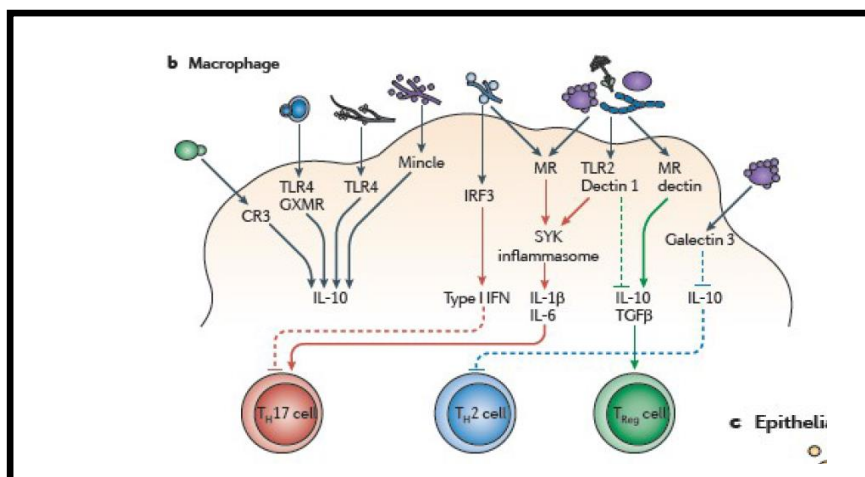


Grafico 3: Respuesta de la inmunidad adaptativa- Macrófagos

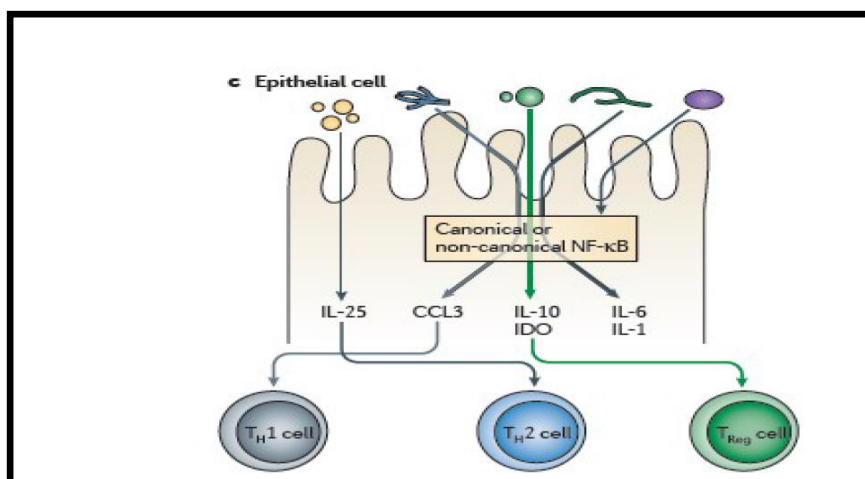


Grafico 4: Respuesta de la inmunidad adaptativa- Células epiteliales

3.2 Candidiasis

3.2.1 Generalidades

La candidiasis son infecciones micóticas provocadas por hongos oportunistas levaduriformes del género *Cándida*, por lo cual a este tipo de micosis se las conoce como oportunistas. Existen diferentes especies de *Cándida*, siendo la especie *Cándida albicans* la de mayor frecuencia en los aislamientos.

La *Cándida* también se puede presentar ante alteraciones fisiológicas de la flora normal del ser humano, en las zonas habituales de localización de estos hongos, así como en trastornos del metabolismo hidrocarbonado y otros factores más comunes como son la vejez, el embarazo, la pubertad, etc. Donde la inmunidad del individuo se ve afectada y permite la colonización patológica de la *Cándida*.

3.2.2. Taxonomía

Teniendo en cuenta la reproducción sexuada de las levaduras se las incluye en las Subdivisiones: Ascomycotina, Basidiomycotina y Deuteromycotina (cuando no se conoce la reproducción sexuada).

Dominio:	Eucarya
Reino:	Fungi
División:	Eumycota
Subdivisión:	Deuteromycotina
Clase:	Blastomycetes
Familia:	Cryptococcaceae
Género:	Cándida
Especies:	<i>C. albicans</i>; <i>C. glabrata</i>; <i>C. krusei</i>; <i>C. parapsilosis</i>; <i>C. tropicalis</i>, etc.

3.2.3 Etiología

La *Cándida* es un hongo Gram positivo que tiene una estructura celular sencilla. La membrana superficial está organizada para desarrollar mecanismos de invasión y destrucción mediante enzimas que se encuentran en ella, así como componentes antigénicos y otras sustancias que generan la adherencia a los tejidos.

La *Cándida spp.* forma parte de la flora saprófita mucocutánea, existiendo un equilibrio perfecto entre su virulencia y los mecanismos de defensa del huésped.

C. albicans se encuentra habitualmente formando parte de la flora gastrointestinal y bucal (donde se halla en escaso número aunque su presencia sea constante), de la flora vulvovaginal (encontrándose en un 5% de las mujeres sanas y hasta en un 30% de las gestantes), y rara vez se encuentra como saprófita en la piel sana. Esta situación se modifica radicalmente cuando concurren factores microambientales predisponentes (cambios en el pH, defectos en linfocitos T y B, disminución de la microbiota bacteriana por antibióticos entre otros).

Existen un gran número de *Cándida*, las especies de mayor incidencia en el ser humano, esta principalmente la *Cándida albicans* que es la especie que se aísla con gran frecuencia de las manifestaciones cutáneas, *Cándida guilliermondii*, *Cándida krusei*, *Cándida parapsilosis*, *Cándida stellatoidea*, *Cándida tropicalis* y *Cándida pseudotropicalis*.

3.2.4. Epidemiología

La candidiásis es considerada como una infección cosmopolita y una de las infecciones oportunistas más frecuente en seres humanos. Su incidencia ha aumentado

considerablemente en los últimos 20 años. Afectando a individuos de cualquier edad, sexo o grupo étnico. (Biasoli, 2013)

Las levaduras del género *Cándida* existen en la naturaleza, en el suelo, en el agua dulce, y en general toda sustancia rica en hidratos de carbono simples. Además, son habitantes habituales del aparato digestivo, respiratorio y regiones mucocutáneas del hombre.

C. albicans forman parte de la flora de la mucosa oral y mucosa gastrointestinal además otras especies como *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, *C. dubliniensis*, *C. krusei* forman parte de esta flora. La piel normal también puede presentar flora de levaduras residentes, que incluye *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*. Otras especies como *C. albicans* y *C. tropicalis* no se encuentran con regularidad en la piel normal, salvo en la región ano-genital y alrededor de la boca. En la mucosa vaginal normal se puede aislar *C. albicans* y, con menor frecuencia, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. krusei*.

3.2.5. Especies de *Cándida* de importancia médica.

Existen más de 150 especies de *Cándidas*, pero solo 14 son reconocidas como patógenas para el ser humano: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis*, *C. pelliculosa*, *C. kefyr*, *C. lipolytica*, *C. famata*, *C. inconspicua*, *C. rugosa* y *C. norvegensis*, *C. albicans* es la más frecuente (70%). (MSP, Guía De Atención Integral, 2010, p 68)

En general estas son clasificadas como levaduras, con un desarrollo predominantemente unicelular. Solamente algunas especies poseen la facultad de adaptarse a una temperatura de 37°C y pueden ser ocasionalmente patógenas para el hombre.

En la cavidad oral puede haber una amplia variedad de especies de *Candida*, las mismas que forman parte de la flora normal de la boca de un 40% de la población, pero la más frecuente es, con gran diferencia, *C. albicans* (70%), *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. famata*, *C. lipolytica*, *C. rugosa*, *C. zeylanoides* e incluso otras levaduras como *Saccharomyces cerevisiae* o *Trichosporon beigeli*. (Puerto, 2001)

Cándida albicans es de forma oval levaduriforme, de 2 a 4 micras, con paredes finas; sin embargo, en tejidos infectados también se han identificado formas filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifa, que son células alargadas de levadura que permanecen unidas entre sí. La *Cándida albicans* posee de 7 a 9 cromosomas, es diploide. Asimila azúcares como glucosa, sacarosa, maltosa, trehalosa y galactosa.

Las levaduras o blastosporas se reproducen asexualmente por un proceso específico de división celular conocido como gemación. La forma filamentosa del hongo (hifa), es una estructura microscópica tubular, la cual contiene múltiples unidades celulares divididas por septos y puede surgir a partir de blastosporas o de hifas existentes, la cual crece continuamente por extensión apical.

La composición química de *C. albicans* está representada por 20-40% de proteínas y 30-50% de polisacáridos, lípidos en 20%. La fracción lipídica va a depender de la cepa, edad del cultivo, condiciones ambientales y del origen de la fuente de carbono. La pared celular de *C. albicans* está compuesta principalmente por los polisacáridos manán, glucán y quitina. El polisacárido manán representa aproximadamente entre 15,2% y 22,9% del peso seco de la pared celular. El D-Glucán β -1-3 y el D-Glucán β -1-6 constituyen entre 47% y 60% del peso. La Quitina entre 0,6% y 9% del peso de la pared celular. Otros proteínas en cantidades que oscilan entre 6% y 25%, lípidos entre 1% y 7%. La membrana

citoplasmática presenta una doble capa compuesta principalmente por lípidos, proteínas y carbohidratos. Posee invaginaciones, que se observan como surcos de 200 a 300 nanómetros de longitud, por 35 a 40 nanómetros de espesor. Además contiene las enzimas responsables de la síntesis de la pared celular. (Caminero, 2013)

La apariencia microscópica de todas las especies de *Cándida* es similar; todas las levaduras son Gram positivas, pero en algunas ocasiones la forma de las blastosporas puede variar de ovoide a elongada o esférica. Además, la *Cándida albicans* presenta dimorfismo, el cual es una transformación de la forma ovoide de las blastosporas gemantes (levaduras) a hifas.

En el citoplasma, al igual que otras células eucarióticas, *C. albicans* presenta: ribosomas, mitocondrias con doble capa, gránulos de glucógeno y vacuolas. El núcleo es típico de una célula eucariótica, con membrana nuclear limitante, uno o varios nucléolos, ADN y ARN y varios cromosomas.

De acuerdo con su composición se han identificado 2 serotipos de *C. albicans*: serotipo A y serotipo B. El serotipo A es antigénicamente más complejo que el B, porque además de presentar los antígenos comunes con el B, posee antígenos específicos. (Perurena, 2001).

La *Cándida tropicalis* produce pseudohifas con blastoconidios, que nacen de modo individual o en racimos irregulares pequeños. Como este patrón no es específico, son necesarios los estudios de asimilación de hidratos de carbono o pruebas de identificación de levaduras. (Koneman, 2008)

La *Cándida glabrata* presenta blastoconidios pequeños, miden de 1 a 4 micras, una característica importante es que *C. glabrata* sólo asimila los azúcares, glucosa, trehalosa y arabinosa, a diferencia de la mayoría de las otras especies de *Cándida* no asimila el inositol y no posee pigmento carotenoide, en cultivos CHROMAgar *Cándida*

glabrata habitualmente presenta color púrpura y no filamenta en plasma a 37 °C. La temperatura máxima de crecimiento es de 43 a 45°C y la temperatura óptima para las cepas de origen clínico es de 35 a 37 °C. Esta especie de *Candida* no es dimórfica. Posee 11 cromosomas y debido a su carácter haploide, se considera que *C. glabrata* tiene mayores posibilidades de presentar mutaciones que otras especies diploides, y es generalmente sensible a los derivados poliénicos, nistatina y anfotericina B. Sin embargo, desde la comercialización y el uso intensivo del fluconazol e itraconazol, se han descrito casos de resistencias in vitro a estos azoles y de falta de respuesta en enfermos con candidiasis tratados con estos anti- fúngicos. (Rafael, 2009)

Cándida krusei es una levadura, derivada de la especie Cándida. Las células mayores son cilíndricas, de hasta 25 micras de largo. Las colonias separadas exceden con frecuencia las 5 micras de diámetro sobre malta-glucosa a 25°C. Es un patógeno nosocomial que principalmente afecta a los pacientes inmunodeprimidos y aquellos con neoplasias hematológicas. Tiene una resistencia natural a fluconazol, un agente antimicótico estándar.

Cándida dubliniensis fue identificada como una nueva especie por Sullivan y Cols, Dublín (Irlanda) en 1995, durante el desempeño de una investigación epidemiológica de la candidiasis oral en pacientes infectados por el VIH y pacientes en fase SIDA, en la década de 1990. El nombre propuesto para esta nueva especie fue *C. dubliniensis* debido a Dublín, la capital de la República de Irlanda, donde la nueva especie fue identificada por primera vez. A pesar de que *C. dubliniensis* se recuperó inicialmente de la cavidad oral, varios estudios posteriores informan del hallazgo de esta especie en otras partes del cuerpo, incluyendo el tracto respiratorio, sangre, sistema nervioso central, vagina, orina, piel y heces, tanto en pacientes VIH-positivos como en pacientes VIH-negativos. (Camacho, 2012). *Cándida dubliniensis* tienen características fenotípicas casi idénticas con *Cándida*

albicans, lo que hace difícil la diferenciación al intentar identificarlas, aun así, existen algunas pruebas bioquímicas y fenotípicas sencillas que permiten separar estas levaduras.

Algunas de las características que comparten son las siguientes:

- Características macroscópicas en Agar Glucosado de Sauboraud (AGS) prácticamente idénticas.
- Características microscópicas idénticas: blastosporas gemantes y producción pseudomicelio.
- Prueba de tubo germinativo positivo (en suero humano), en 3 horas a 37°C).
- Producción de clamidosporas en Agar Harina de Maíz (Cornmeal)
- Crecimiento a 37 °C en AGS.

Actualmente, la forma más precisa para diferenciar entre ambas especies son las técnicas moleculares, lo cual se lleva a cabo en laboratorios de referencia. Algunos métodos fenotípicos confiables para la identificación de *C. dubliniensis* son la asimilación de carbohidratos, empleando sistemas comerciales, y la detección de antígenos específicos mediante inmunofluorescencia, morfología en algunos medios de cultivo, entre otros. (Quezada, 2007)

Cándida guilliermondii es una levadura que produce fungemia, osteomielitis y peritonitis, y tiene baja sensibilidad al fluconazol y a la anfotericina B. Presenta dos variedades: *C. guilliermondii* var. *guilliermondii* y *C. guilliermondii* var. *membranifaciens*. En el medio CHROMAgar *Cándida*, desarrolla una colonia de color rosado-púrpura.

Cándida parapsilosis es un microorganismo diploide morfológicamente caracterizado por células redondeadas, ovales o alargadas y producción de pseudohifas, es incapaz de formar hifas verdaderas, hay tres especies: *Cándida parapsilosis* sensu stricto, *Cándida orthopsilosis* y *Cándida metapsilosis*, con diferencias importantes en cuanto a

virulencia y susceptibilidad antifúngica. *C. parapsilosis* se encuentra asociada a una amplia gama de entidades clínicas, desde infecciones superficiales, las cuales afectan principalmente el lecho ungüéal de uñas tanto de manos como de pies, piel, incluso oído medio, hasta infecciones sistémicas.

3.2.6. Patogenia

La Cándida es un hongo oportunista debido a que su entrada y desarrollo en los seres humanos parte en gran medida de una alteración fisiológica y una insuficiencia en los mecanismos de defensa del organismo. En estos procesos inmunológicos tienen un papel importante los linfocitos T estimulados, que son capaces de aniquilar la *Cándida albicans* y por este motivo es imprescindible el correcto funcionamiento de la inmunidad celular. De esta forma en la candidiasis cutánea los casos más simples como la maceración de la piel en la zona interdigital, humedad excesiva en el pie y las alteraciones ungueales pueden provocar ruptura de los tegumentos generando el desarrollo de infecciones micológicas por Cándida.

3.2.7 Clínica

Las infecciones por Cándida se producen cuando se rompe el equilibrio entre el poder patógeno del hongo y los mecanismos normales de defensa del organismo. Esta situación se puede dar cuando se toman antibióticos, pues éstos alteran la flora microbiana normal ya que eliminan las bacterias habituales y los hongos tienen más campo para reproducirse. Otra situación que facilita las candidiasis son las enfermedades que alteran el sistema inmunitario por si mismas o debido al tratamiento (como el HIV, el cáncer y la quimioterapia o los trasplantes de órganos).

Las manifestaciones clínicas de las micosis sistémicas oportunistas también son variables, dependiendo del sitio de entrada del microorganismo y de la enfermedad subyacente que se presenta como cutáneas, mucosas y las diseminadas.

Las manifestaciones bucales de la infección por el VIH son un componente fundamental de la progresión de la enfermedad y ocurre en aproximadamente 30 a 40% de la población de pacientes afectados. Calabuig, Eva, manifiesta “Los factores que predisponen la expresión de lesiones orales incluyen conteo de CD4 menores de 200 células/mm³, una carga viral mayor de 3000 copias/ml, xerostomía, higiene bucal pobre y el hábito de fumar”.

Las manifestaciones de la candidiasis bucal varían de acuerdo con su género; la más común es la infección pseudo-membranosa (conocida también como algodoncillo). Esta lesión se presenta clásicamente como semiadherida, blanco amarillenta, blanda, cremosa, con aspecto de gotas y áreas de pseudomembranas que confluyen y pueden ser removidas con una gasa o un bajalenguas, dejando una superficie roja sangrante. Estas lesiones pueden afectar cualquier área de la mucosa bucal, pero es más frecuente en la lengua, el paladar duro y blando y la mucosa del carrillo. En cambio, la candidiasis hiperplásica, conocida también como candidiasis leucoplásica está caracterizada por placas blancas que no pueden removerse con una gasa o un bajalenguas. Este tipo está asociado con supresión severa del sistema inmune y enfermedad por el VIH de larga duración.

La tercera forma de manifestación de la enfermedad es la candidiasis eritematosa (atrófica), que aparece en forma de manchas rojas, visibles durante las etapas iniciales de la enfermedad por el VIH. Se observa además la lesión roja con un epitelio atrófico o sin éste, por lo que se propone utilizar el término eritematoso y no atrófico. El sitio afectado con más frecuencia es el paladar duro y el dorso de la lengua, acompañado de depilación, aunque también puede verse en la mucosa bucal y en el paladar blando.

Las candidiasis diseminadas se dan cuando la Cándida penetran en la circulación sanguínea, se diseminan por el organismo, pudiendo afectar diferentes órganos, produciendo abscesos en los órganos afectados. Los órganos más afectados suelen ser el ojo (la retina), el cerebro, los riñones y el corazón, pero también se pueden afectar el hígado, el bazo, etc. Las candidiasis diseminadas se favorecen por los siguientes factores: tratamientos con antibióticos y quimioterapia, catéteres endovenosos, catéteres urinarios permanentes, cirugía abdominal, etc.

3.3 Candidiasis y VIH/SIDA

La candidiasis ha sido reconocida como la micosis más frecuente en pacientes con sida, sin embargo, desde el punto de vista clínico, es menos grave que el resto de las micosis que afectan a estos pacientes, pues se presenta como candidiasis orofaríngea y esofágica. (MSP, *Guía De Atención Integral VIH/SIDA*, 2010).

La candidiasis oral es la lesión asociada al VIH de mayor predominancia, apareciendo hasta el 90% de los pacientes VIH/SIDA. (Chauca, 2004) Afecta principalmente a pacientes en estadios iniciales y finales de la enfermedad.

La candidiasis oral se presenta en 40%-70% de los pacientes y la esofágica en un 12%. Esta última es una enfermedad marcadora de SIDA, la presencia de cualquier forma de candidiasis está relacionada con conteo de CD4 <200 células/mm³, por lo tanto, su presencia en estos casos es indicación de tratamiento. (MSP, *Guía De Atención Integral VIH/SIDA*, 2010, p 68)

La candidiasis es la infección fúngica oportunista más frecuente en los pacientes afectados por el VIH/SIDA y tiene una estrecha relación con el deterioro de la inmunidad celular, generalmente afecta la piel y las membranas mucosas tales como la boca, la garganta, el esófago y la vagina.

La candidiasis es causada principalmente por *Cándida albicans*; sin embargo, están implicadas *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* y *C. parapsilosis*. La candidiasis es considerada como un marcador temprano de VIH, pero la infección puede presentarse en cualquier fase de la enfermedad.

Las infectadas por el VIH sufren episodios intermitentes de candidiasis, cuya seriedad va en aumento a medida que deprimen sus sistemas inmunitarios, y en estos casos, la *Cándida albicans* puede diseminarse por todo el organismo provocando manifestaciones

pulmonares, digestivas y también septicemias, ocasionando los que se denomina micosis oportunista.

Desde el primer caso de SIDA detectado se pudo determinar la existencia de candidiasis oral asociada con dicha patología. Esta asociación fue corroborada a medida que el SIDA se convirtió en epidemia, y es así que actualmente la candidiasis oral se manifiesta en un gran porcentaje (aproximadamente el 75 %) de los pacientes que presentan SIDA. (Palacios, 2011).

3.3.1 Historia del SIDA

El síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) es una enfermedad de transmisión mayormente sexual que se debe a una mutación o cambio en un virus propio de una especie de mono africano, que pasó a la sangre humana, se ha adaptado, reproducido y difundido a nivel mundial.

Son dos los retrovirus que producen inmunodeficiencia en los seres humanos, el más virulento y extendido es el VIH-1, muy semejante a los virus de inmunodeficiencia de los simios (VIS). EL VIH-2 es menos virulento y está extendido principalmente en África Occidental.

La epidemia es reciente, los primeros casos notificados en África y Europa datan de 1959, en muestras de sangre tomadas en 1959 de un paciente de la República Democrática del Congo y en Norteamérica de 1968, muestras de tejido de un joven de St Louis quien murió 1969 y otra muestra de tejido de un marino noruego quien murió 1976. En Junio 1981, en EEUU apareció la epidemia del "Síndrome de Inmunodeficiencia relacionada con los homosexuales" o denominada "Cáncer Gay", la mayoría de las personas fallecidas eran varones homosexuales.

En 1982, el CDC reporta la presencia de la enfermedad en haitianos y hemofílicos y concluye que el síndrome es transmitido por agente infeccioso y decide llamarlo SIDA (síndrome inmunodeficiencia adquirida) y comienza a ser considerada como una epidemia que afectaba no solo a los homosexuales. En París, en 1983 el profesor Luc Montagnier, del Instituto Louis Pasteur de París, inicia las investigaciones con retrovirus humano, de un ganglio extraído del cuello de un estilista francés. En este mismo año el Instituto Pasteur en Francia, reporta el aislamiento y la identificación del virus que puede ser la causa del SIDA.

En 1983, ya se conoce con extrema certeza que la infección y diseminación se hace a través de contacto sexual con varones homosexuales, transfusiones sanguíneas no analizadas, uso de drogas endovenosa con agujas y jeringuillas contaminadas. También casos de SIDA fueron reportados en mujeres sin otros factores de riesgo, sugiriendo que la transmisión era a través del sexo heterosexual. Además el CDC publica las primeras recomendaciones de precaución para trabajadores de salud, para prevenir la transmisión. En 1986 el comité Internacional de Taxonomía de los Virus, recomendó denominar “Virus de Inmunodeficiencia Humana” que anteriormente se había denominado “Virus Asociado con Linfadenopatía”.

3.3.2 Epidemiología del SIDA

Tras la aparición de tratamientos eficaces, la vigilancia epidemiológica de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se ha dirigido no sólo a los casos del SIDA, sino también a los nuevos casos de personas diagnosticadas infectadas de VIH. A nivel mundial, la infección por el VIH/SIDA constituye en la actualidad una de las principales causas de morbilidad y mortalidad. El Programa Conjunto de las Naciones

Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) estima que, desde el inicio de la pandemia, más de 60 millones de personas se han infectado por el VIH, de las que un tercio han fallecido.

En Ecuador, fue en 1984 cuando se reportó el primer caso del Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) (La Hora, 2015), desde este año hasta el 2010, que registra un decremento de las defunciones por VIH y un incremento en los casos de VIH y SIDA debido a una mejor notificación al Sistema de Información.

Según menciona el informe UNGASS Ecuador 2010, desde el año 1984 año en que se notificó el primer caso de VIH en el Ecuador hasta diciembre de 2009, se han registrado 21.810 personas con VIH y/o SIDA, de las cuales se han reportado 4.970 personas fallecidas a causa de enfermedades asociadas con SIDA. (UNGASS, 2010)

Según estadísticas levantadas por el MSP desde 1984 al 2011, la prevalencia de la enfermedad en la población en general del Ecuador es del 0,24%, con 22.177 casos registrados de VIH, 9.911 que han desarrollado SIDA y 7.031 defunciones.

Según, el Ministerio de Salud Pública de Ecuador, durante el año 2011, de los casos nuevos notificados de VIH, se ha reportado 1010 casos en jóvenes entre 15 y 29 años y, 944 casos en edades de los 30 y 49 años de un total de 3.438 nuevos casos de VIH notificados al MSP, es decir, el 56.80% de nuevas notificaciones por VIH corresponde a la población económicamente activa. En el año 2012 se registraron 24.532 casos de VIH y 10.432 casos de SIDA, lo cual da un total de 34.964 casos de personas afectadas por este virus. (La Hora, 2012).

En la provincia de Loja, en la clínica de VIH del Ministerio de Salud Pública se cuenta estadísticamente a un total de 230 pacientes registrados como activos, de los cuales 4 pacientes son casos de VIH y 206 pacientes son considerados como casos de SIDA, según clasificación vigente del CDC. (MSP, *Guía De Atención Integral VIH/SIDA*, 2010)

3.3.3. Sistema de clasificación para infecciones por VIH

Con el objeto de clasificar a los pacientes por motivos epidemiológicos, los CDC (Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades), de Atlanta, EE.UU., realizaron una clasificación para infecciones por VIH en adultos y adolescentes mayores de 13 años de edad que fue actualizada por última vez en 1993, y que define el caso de SIDA

Según esta clasificación todos los pacientes en las categorías A3, B3 y C1 a C3 son considerados como casos de SIDA.

Categorías según CD4		Categorías clínicas		
		A	B	C
		Asintomático o linfadenopatía persistente generalizada o infección aguda por VIH	Sintomático (No a ni C)	Evento definitorio de SIDA
1	> 500 cél/ mm ³	A1	B1	C1
2	200- 499 cél/ mm ³	A2	B2	C2
3	< 200 cél/ mm ³	A3	B3	C3

Grafico 1. Sistema de clasificación para infecciones por VIH en adultos y adolescentes mayores de 13 años de edad. (MSP, Guía De Atención Integral VIH/SIDA, 2010, p 68)

Categoría A

El paciente está clínicamente asintomático y generalmente sin mayores hallazgos al examen físico, excepto en algunos casos Linfadenopatía generalizada persistente (LGP), la cual se define como la afectación de dos cadenas ganglionares no contiguas fuera de las inguinales. En esta categoría se incluye también la infección (primaria) aguda por VIH.

Categoría B

Síntomas de infección documentada por VIH y síntomas no incluidos en la categoría C, que cumplan al menos uno de los siguientes criterios:

- Las condiciones son atribuibles a la infección por VIH o son indicadoras de un defecto de inmunidad celular.
- Las condiciones con curso clínico o manejo complicado por la infección por VIH.

Entre las condiciones de la categoría clínica B se incluyen (aunque no se limitan a ellas) las siguientes:

1. Angiomatosis bacilar.
2. Candidiasis orofaríngea.
3. Vulvovaginitis candidiásica persistente, frecuente o de pobre respuesta a terapia.
4. Displasia cervical (moderada o severa), carcinoma cervical in situ.
5. Síntomas constitucionales tales como fiebre (38,5 °C) o diarrea de duración mayor de un mes.
6. Leucoplasia vellosa.
7. Virus herpes zoster implicando al menos dos episodios distintos o más de un dermatoma.
8. Púrpura trombocitopénica idiopática.
9. Listeriosis.
10. Enfermedad inflamatoria pélvica particularmente si está complicada con abscesos tubo-ováricos.
11. Neuropatía periférica.

Categoría C

Eventos definitorios de sida para adultos

Candidiasis de esófago, tráquea, bronquios o pulmones.

Cáncer cervical invasivo.

Coccidioidomicosis extrapulmonar.

Criptococcosis extrapulmonar.

Criptosporidiasis con diarrea más de 1 mes.

Enfermedad por Citomegalovirus no localizada en hígado, bazo y sistema ganglionar.

Bronquitis, neumonitis o esofagitis o úlceras cutáneas crónicas por herpes simplex (mayor de 1 mes).

Histoplasmosis extrapulmonar.

Demencia asociada al VIH.

Síndrome de desgaste: pérdida de peso > 10% del habitual, más diarrea crónica (más de 2 deposiciones diarreicas durante más de 30 días) o astenia crónica y fiebre de origen desconocido por más de 30 días.

Isosporidiasis con diarrea más de 1 mes.

Sarcoma de Kaposi en pacientes menores de 60 años.

Linfoma no Hodgkin o a células B o de un fenotipo inmunológico desconocido, linfoma primario de cerebro o sarcoma inmunoblástico.

Micobacteriosis por *M. avium* o *M. kansasii* diseminada.

Tuberculosis pulmonar o extrapulmonar.

Neumonía por *Pneumocystis carinii* (actualmente llamado *P. jiroveci*).

Neumonía bacteriana recurrente, más de 2 episodios en 1 año.

Leucoencefalopatía multifocal progresiva.

Sepsis por *Salmonella* (no typhi) recurrente.

Estrongiloidosis extraintestinal.

Toxoplasmosis de órganos internos (cerebral).

3.3.3 Candidiasis oral en pacientes con infección por VIH

Desde el inicio de la pandemia del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), la candidiasis oral se mostró como un indicativo importante de la infección por VIH y progresión del SIDA. La candidiasis ha sido reconocida como la micosis más frecuente en pacientes con sida, sin embargo, desde el punto de vista clínico, es menos grave que el resto de las micosis que afectan a estos pacientes, pues se presenta como candidiasis orofaríngea y esofágica. La candidiasis oral se presenta con mayor frecuencia en los pacientes infectados por el VIH con un bajo recuento de linfocitos CD4 <200 células/mm³, presentándose en 40%-70% de los pacientes y la esofágica en un 12%. (MSP, Guía De Atención Integral, 2010, p 68)

Cándida albicans es la especie que más comúnmente se aísla, no obstante, se han aislado otras especies en pacientes infectados por VIH como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* o *dubliniensi*. *Cándida albicans* con mayor frecuencia es la causante de candidiasis eritematosa, la pseudomembranosa y la queilitis angular entre los pacientes infectados por el VIH.

La candidiasis pseudomembranosa (aguda o crónica) también conocida con el término de Candidiasis Atrófica Aguda o Mughet, esta candidiasis es la forma más clásica de las infecciones producidas por la *Candida* en individuos infectados por el VIH y es significativamente más frecuente en pacientes con recuentos inferiores a 200 CD4/μl. Clínicamente se caracteriza por la presencia de manchas o parches en la mucosa de color crema, blanco perlado o blanco azulado; las lesiones semejan leche cuajada o un exudado

parecido al algodón (algodoncillo). Las lesiones suelen afectar todas las áreas de la mucosa yugal, paladar y lengua. Son de corta evolución y duran hasta cuatro semanas. Suele haber edema y microabscesos en el tejido subepitelial.

La candidiasis eritematosa (aguda o crónica) también es conocida con el término “Boca dolorosa asociada al uso de antibióticos” o “Lengua Antibiótica”, por su aparición como resultado del uso de antibióticos de gran espectro. Es la forma clínica más común entre las personas infectadas por VIH. Clínicamente se aprecian áreas eritematosas, principalmente en el dorso lingual y paladar duro. Esta forma es más común en los estadios iniciales de la infección por el VIH, con recuentos de CD4 superiores a 200 células/ μ L.

La queilitis angular es una patología labial que muestra un enrojecimiento de las comisuras con aparición de grietas o fisuras y formación de costras, generalmente bilateral. En muchas ocasiones se trata de una infección mixta por *Candida* y bacterias como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus*. La queilitis es la tercera forma más común de candidiasis, suele ser crónica y recidivante en estos pacientes. Clínicamente, la Quelitis angular se manifiesta como una lesión eritematosa y fisurada que son resultado de una maceración causada por fisuras o pliegues profundos y oclusivos de la piel ubicada en uno o ambos ángulos bucales o comisuras labiales junto con formación de costras, por la salida de la saliva infectada con *Candida*.

Además, se han descrito otras formas clínicas de candidiasis orales asociadas en estos pacientes, como la candidiasis hiperplásica forma controvertida y difícil de diferenciar de la leucoplasia. (Aguirre, 2004).

3.4 Pruebas de identificación para cándida

Los métodos tradicionales para la identificación de levaduras se basan en la determinación de sus características morfológicas y de sus requerimientos nutricionales, para lo cual se utilizan técnicas laboriosas que insumen mucho tiempo, métodos comerciales algunos automatizados, basados en la actividad enzimática de las levaduras, los que muestran buena especificidad y reproducibilidad.

Debido a que estos organismos levaduriformes forman parte de la flora normal de piel y mucosas, el diagnóstico debe estructurarse conjuntamente con las manifestaciones clínicas y la respuesta al tratamiento.

La toma de muestras se lleva a cabo de diferentes maneras: frotis directo con torunda estéril, enjuague bucal con solución salina (para cuantificación), impregnación con un cuadrado de espuma estéril (para cuantificación), biopsia (en candidiasis hiperplásica y esofagitis). La identificación de las levaduras se puede llevar a cabo atendiendo a cuatro criterios diferentes: morfológicos, bioquímicos, inmunológicos o genéticos.

3.4.1 Pruebas macroscópicas

Estas pruebas macroscópicas se basan en los criterios de las colonias de levaduras al crecer en los diferentes medios de cultivo como forma, consistencia, color.

La mayoría de los organismos levaduriformes crecen fácilmente en un gran número de medios de cultivo (agar sangre, agar chocolate, agar Cled, etc.). Sin embargo, el agar glucosado de Sabouraud (SDA), con o sin antibióticos añadidos, es el medio de aislamiento por excelencia para la identificación de levaduras. Por lo general las colonias de levaduras no desarrollan micelio aéreo, aunque en ocasiones pueden aparecer prolongaciones aracneiformes en la periferia de las colonias, y debe considerarse de que se trate de un hongo dimorfo. En el medio SDA las colonias de levaduras suelen ser

completas, ligeramente abombadas o planas, de consistencias mantecosas, lisas o rugosas, con olor dulzón agradable.

3.4.2 Pruebas Microscópicas.

Ciertas características microscópicas son muy útiles para la identificación de algunas especies de levaduras, entre las pruebas más utilizadas en la práctica para la identificación de las levaduras son las siguientes:

3.4.2.1 Prueba del tubo germinal.

El tubo germinal es una extensión filamentosa de la levadura, sin estrechamiento en su origen, cuyo ancho suele ser la mitad de la célula progenitora y su longitud tres o cuatro veces mayor que la célula madre. Es una prueba útil para diferenciar *C. albicans*, *C. dubliniensis* del resto de las especies de *Cándida*.

Sólo *C. albicans* es capaz de producir verdaderos tubos germinales; sin embargo, otras especies como *C. tropicalis* pueden producir pseudohifas precoces de aspecto similar a los tubos germinales.

Se realiza a partir de una colonia fresca (24-48 h de crecimiento) utilizando plasma fresco o suero humano con glucosa incubando a 37 °C por máximo 3 horas. El tubo germinal es una extensión filamentosa de la levadura, sin estrechamiento (constricción) en su sitio de unión con la blastoconidia, que da lugar a hifas verdaderas.

Sólo *C. albicans* y *C. dubliniensis* son capaces de producir verdaderos tubos germinales; sin embargo, otras especies como *C. tropicalis* pueden producir pseudohifas de aspecto similar a los tubos germinales pero con blastoconidias más grandes que las de *C. albicans*.

Para considerar una prueba como positiva deben observarse más de 5 tubos germinales. Esta es prueba presuntiva ya que no todos los aislamientos de *C. albicans* son

tubo germinal positivo y también se presentan falsos negativos (hasta 5% *C. albicans* son negativas). Además de la técnica con suero, el test puede realizarse utilizando otros medios de cultivo:

a. Plasma de conejo: Berardinelli y Opheim, describieron un medio de inducción de tubos germinales constituido por tres partes de coagulasa plasmática de conejo con EDTA y dos partes de caldo Try-Soy (Scott Laboratories, Inc). La inoculación, incubación e interpretación son similares a la técnica con suero

b. Medio de cultivo sólido Oxgall-Tween-ácido cafeico (TOC):

La utilización de este medio permite la visualización del tubo germinal y también de clamidosporas. Para su realización se estría una pequeña porción de la colonia sobre al agar TOC y a continuación se coloca con suavidad un cubre-objetos estéril (flameándolo suavemente) sobre la superficie inoculada. Se incuba a 35°C, en 10% de CO₂, durante 2 horas, manteniendo la tapa de la placa ligeramente abierta para que todo el cultivo sea alcanzado por el CO₂. La prueba es positiva si se visualizan los tubos germinales en la zona de inoculación a bajo aumento (x100- x400)

3.4.2.2 Formación de hifas, blastoconidias, clamidosporas y artrosporas.

La formación de hifas, blastoconidias, clamidosporas o artrosporas por parte de las levaduras constituye una característica morfológica para la identificación de algunas especies de levaduras.

Ante la formación de hifas, lo primero que hay que determinar es si se trata de pseudohifas o hifas verdaderas. Si se comprueba la presencia de pseudohifas y blastoconidias la levadura a identificarse pertenece a alguna especie del género *Candida*. Si por el contrario, se observa hifas y artroconidias, lo más probable es que se trate de especies de *Trichosporon*, *Geotrichum*, *Galactomyces* o *Blastoschizomyces*.

La formación de Clamidoconidias es característica y diagnóstico de *C. albicans*, son de forma redondas u ovales, de 6-12 μm de diámetro y pared gruesa, con aspecto de esporas, presentes en las pseudohifas. Pueden ser laterales o terminales, en acúmulos, pares o tripletas. Esta prueba se realiza en medios pobres como cornmeal, papa zanahoria, agar caseína, agar tomate, agar tabaco, tween 80 entre otros, incubados por 72 horas a 25°C.

3.4.3 Identificación mediante pruebas bioquímicas

3.4.3.1 Pruebas bioquímicas enzimáticas: Medios cromogénicos

Los agares cromogénicos son medios selectivos y diferenciales. Contienen como base glucosa y peptona, la selectividad es dada por el cloranfenicol, contiene una mezcla de sustratos cromógenos que liberan unos componentes coloreados diferentes cuando son degradados por enzimas específicas producidas por ciertas especies de *Cándida*.

3.4.3.1.1. CHROMAgar *Cándida*

El medio CHROMAgar *Cándida* descrito por Odds. y Barnaerts en 1994, uno de los primeros en salir al mercado, ha mostrado una gran sensibilidad y especificidad en la identificación en especies de *Cándida* en función de los colores que desarrollan en este medio. La especificidad y la sensibilidad para *C.albicans*, *C.tropicalis* y *C.krusei* superan el 99% (Odds y Barnaerts 1994). (CHROMagar TM *Cándida*). Este medio permite el desarrollo de las especies más comunes de *Candida* y hongos levaduriformes mediante la formación de colonias coloridas diferenciadas: *C. albicans* produce colonias lisas y de color verde esmeralda; *C. dubliniensis* color verde oscuro y que, además, es incapaz de crecer a 45 °C, *C. tropicalis* produce colonias azul oscuro con un halo púrpura-marrón en el agar que la rodea, *C. krusei* forma colonias rugosas con el centro rosado y el borde

blanco, *C. glabrata* produce colonias de color violeta o morado, otras especies de *Candida* spp. (blanco-crema), *Trichosporon* spp. (azul-gris) y *Geotrichum* spp. (Violeta).

3.4.3.2 Detección de enzimas

3.4.3.2.1 Prueba de urea.

Esta prueba mide la capacidad de la levadura de hidrolizar la molécula de úrea en dos moléculas de amonio por la acción de la enzima ureasa; esto genera un incremento del pH del medio y en consecuencia el cambio de color de naranja a fucsia. Esta enzima por lo general está ausente en el grupo de los Ascomycetes, pero está siempre presente en los Basidiomycetes, permite diferenciar los géneros *Cryptococcus*, *Trichosporon* y *Rhodotorula*, los cuales son ureasa positivos, de *Candida* y *Geotrichum* que son negativos a este ensayo, y algunas como *C. krusei*, puede presentarla como positiva o no presentarla. (Linares, 2007)

3.4.3.2.2 Actividad de fenol-oxidasa.

Esta actividad se produce en presencia de sustratos orto-fenólicos como ácido caféico o bilis esculina, los cuales son hidrolizados; los productos reaccionan con las sales de Fe⁺³ dando como resultado un pigmento oscuro o negro, indicativo de la positividad de la prueba. *C. neoformans*, la especie más patógena de este género, tiene la capacidad de producir esta enzima, sin embargo, esta puede ser variable en las otras especies del género. (Ministerio de salud- Perú, 2007)

3.4.3.3 Identificación basada en métodos de asimilación de nutrientes.

3.4.3.3.1. AUXACOLOR:

Se fundamenta en la aplicación por separado de diferentes nutrientes, hidrocarbonados o nitrogenados, sobre un medio sintético base para apreciar el crecimiento

selectivo de una levadura en la cercanía de los nutrientes necesarios para su desarrollo. Para su realización pueden emplearse soluciones acuosas, cilindros de Oxford en pocillos hechos en el agar o bien discos de papel absorbente empapados con el nutriente. En la galería Auxacolor (Bio-Rad) se basa en la asimilación de los azúcares, se visualiza por el cambio de un indicador de pH. Además, incluye 3 pruebas enzimáticas entre las que se encuentra un test de detección de la actividad fenoxidásica de *Cryptococcus neoformans*. (BIO-RAD, Auxacolor)

3.4.3.3.2. *Medios de cultivo base.*

Estos medios de cultivo se prepararan según la técnica habitual y no necesitan ajustar el pH, como sustrato de nitrógeno se suele emplear peptona, asparagina, urea, sulfato amónico, nitrato de potasio y aminoácidos diversos. Se expenden deshidratados como medio base de levaduras. Los más utilizados son los siguientes:

1. Medio sin carbono. Sulfato amónico (5 g/l), Fosfato monopotásico (1 g/l), Sulfato de magnesio (0,5 g/l), Agar (20 g/l).
2. Medio sin nitrógeno. Glucosa (20 g/l), Fosfato monopotásico (1 g/l), Sulfato de magnesio (0,5 g/l), Agar (20 g/l).

3.4.3.3.3. *Sistema UNI-YEAST-TEK:*

El sistema Uni-Yeast Tek (Remel) está constituido por una placa plástica con múltiples compartimentos que contienen un medio con agar para la asimilación diferencial de siete hidratos de carbono. También incorpora una cubeta central con agar harina de maíz-Tween 80 para determinar el crecimiento micelial y la producción de clamidosporas. Además, está provisto de agar urea, agar para la asimilación y reducción de nitratos y de un caldo con extracto de carne al 2,6% (con 0,05% de glucosa) para realizar la prueba del tubo germinal. (Linares, 2007)

3.4.3.4 Sistemas semiautomáticos y sistemas automáticos

3.4.3.4.1 *Sistemas semiautomáticos.*

En la actualidad se han comercializado diversos semiautomáticos de asimilación de nutrientes que simplifican tanto su uso como su interpretación. Entre las pruebas principales esta API 20 C AUX, Galería ID 32C.

API 20 C AUX (bioMérieux) se compone de 20 cúpulas con sustratos deshidratados que permiten realizar 19 pruebas de asimilación. Las cúpulas se inoculan con un medio mínimo semisólido y las levaduras sólo se reproducen si son capaces de utilizar el sustrato correspondiente. Permite identificar un total de 34 especies diferentes. La lectura de estas reacciones se hace por comparación con un control de crecimiento y la identificación se obtiene, a partir de un código numérico, mediante un catálogo analítico o un programa informático. (Linares, 2007)

La galería ID 32 C (bioMérieux) está compuesta por diferentes pruebas de asimilación y por una base de datos especialmente adaptada. Permite identificar 63 especies diferentes de organismos levaduriformes o relacionados y puede ser utilizada manualmente o bien de forma automatizada mediante los sistemas ATB Expresión o mini API. La galería se compone de 32 cúpulas: 29 contienen cada una un sustrato carbonado deshidratado, 1 es el control negativo, 1 detecta la sensibilidad a la cicloheximida y la última es una prueba colorimétrica para la esculina. (Linares, 2007)

3.4.3.4.2 *Métodos Automatizados.*

Son métodos de identificación rápida basados en ensayos de asimilación de carbohidratos y otras pruebas bioquímicas, los cuales se encuentran estandarizados y simplificados en forma de sustratos liofilizados. A diferencia de las pruebas convencionales, que pueden tomar entre 2-20 días, el sistema automatizado permite la

identificación de la levadura en un lapso de 24-48 horas y los resultados pueden ser leídos en forma manual o automática a través de un Software. Entre estos sistemas podemos mencionar el API Candida, API-ATB, ID 32C, API 20C, Vitek Systems, Baxter MicroScan System y otros:

El sistema Vitek 2 (bioMérieux) es un sistema totalmente automático para la detección del metabolismo fúngico que puede identificar levaduras y organismos afines en sólo 15 horas. Está basado en tecnología de fluorescencia y se compone de las tarjetas de análisis con 63 pocillos, una consola satélite para la recogida de información, un módulo incubador, un módulo principal donde se procesa la información en el software de análisis. Permite la identificación de 51 especies diferentes, incluida *C. dubliniensis*

El sistema Biolog YT MicroPlate (Biolog) permite la identificación de organismos levaduriformes mediante 94 pruebas bioquímicas, llegando a identificar hasta un total de 267 especies diferentes pertenecientes a 53 géneros.

El Rapid Yeast Identification Panel MicroScan (Dade Behring) es un método automatizado para la identificación rápida de 40 especies de levaduras y otros microorganismos afines. Se basa en la utilización de pruebas convencionales y cromogénicas en una placa de microdilución de 96 pocillos que utiliza 27 sustratos deshidratados.

El RapID Yeast Plus System (Innovative Diagnostic Systems) es un sistema compuesto por un panel de 18 pocillos; cada uno contiene un sustrato convencional o cromogénico que detecta la asimilación de carbohidratos, ácidos orgánicos o aminoácidos, así como la hidrólisis de la urea y de ácidos grasos. Permite identificar hasta 43 especies diferentes de levaduras.

Fungiscreen 4H (BIO-RAD) es un sistema basado en el estudio del perfil enzimático de algunas levaduras, permitiendo identificar en 4 horas *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. neoformans*.

Krusei-Color (Fumouze). Es un método para la identificación de aislamientos de *C. krusei* por aglutinación de partículas de látex, mediante un anticuerpo monoclonal específico que reacciona específicamente con el antígeno localizado en su pared.

Bichro-Dubli (Fumouze) es un método para la identificación rápida de *C. dubliniensis* basado en la coaglutinación de blastosporas de esta especie con partículas de látex recubiertas con anticuerpos monoclonales, el cual permite la detección específica de un antígeno de *C. dubliniensis* localizado en la superficie de la célula. La emulsión de colonias de *C. dubliniensis* en el reactivo Bichro-Dubli revela una coaglutinación, visible a simple vista, entre las blastosporas que portan el antígeno y las partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos monoclonales, aglutinados azules que progresivamente se extienden hacia la periferia, formando un borde azul alrededor de un área central roja/rosa. (Cuenca, 2006).

3.4.3.5 Identificación mediante criterios Inmunológicos.

Las técnicas serológicas siguen siendo una herramienta de gran valor en el diagnóstico de las micosis profundas, para la detección de antígenos o anticuerpos. Estos ensayos, han sido aplicados en el diagnóstico e identificación rápida de hongos con el uso de anticuerpos monoclonales o monoespecíficos por ensayos de inmunodifusión doble, inmunofluorescencia, aglutinación, ELISA e inmunoperoxidasa. Hoy en día disponemos de pruebas comerciales rápidas y de fácil ejecución como Bicholatex Albicans y Krusei color (Francia), consistentes en partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos monoclonales que reaccionan en forma específica con antígenos de superficie de la

levadura. Otras técnicas también están disponibles en el mercado para diagnóstico e identificación rápida del agente causal.

3.4.3.6 Estudios de Biología Molecular

Son herramientas de alto potencial tanto para el diagnóstico como para la identificación y clasificación taxonómica de microorganismos. Estos ensayos están basados en el análisis de secuencias de ADN genómico, con el uso de secuencias cortas específicas de oligonucleótidos con técnicas de PCR y PCR-EIA.

Muchos reportes han demostrado la aplicación de las técnicas moleculares en la identificación de hongos filamentosos y levaduras. Hoy en día se han evaluado pruebas de ADN con secuencias especie-específica, derivadas de la región variable de la subunidad mayor 26S ribosomal del DNA para la identificación de las especies de *Cándida* por PCR, así como también secuencias cortas de oligonucleótidos, que identifican y discriminan a través de PCR a *C. albicans* y *C. dubliniensis*.

Las técnicas de biología molecular tienen la gran ventaja de ser específicas, sensibles y eficientes, permiten diferenciar especies muy relacionadas entre si desde el punto de vista taxonómico, así como la identificación en un corto período de tiempo, de hongos que desarrollan pocas o ninguna estructura fructífera. Sin embargo, debido a exigencias de costo, infraestructura y experiencia técnica requerida, están en el presente, más disponibles en laboratorios de referencia que de rutina.

4. Materiales y Métodos.

4.1 Lugar de la investigación

Se llevó a cabo en la Provincia de Loja, Cantón Loja, en el Hospital Regional “Isidro Ayora” (HRIA), en la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA, con la participación voluntaria de los pacientes con infección de VIH y SIDA que se encuentran registrados en este departamento.

4.2. Periodo de la investigación

La investigación se realizó en los meses mayo a julio 2014.

4.3. Recursos Humanos y Físicos

a. Recursos Humanos

Tutor de la tesis

El autor

Personal del Laboratorio de microbiología

Pacientes ambulatorios y hospitalizados

b. Recursos físicos:

Aplicadores de dacrón.

Tubos de ensayo.

Cajas de Petri

Asas microbiológicas.

Agar Dextrosa Sabouraud cloranfenicol (SDS)

CHROMAgar Candida

Balanza analítica

Estufa de Laboratorio

Cabina de Bioseguridad

Autoclave.

Computadora.

Impresora

Materiales de impresión.

4.4 Universo y Muestra.

4.4.1. Universo

Se incluyó las muestras de los pacientes ambulatorios y hospitalizados con VIH y pacientes con SIDA, que se encuentran registrados como activos en la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA del hospital regional “Isidro Ayora” de Loja, durante el periodo mayo a junio 2014.

4.4.2. Muestra

La muestra de este estudio estuvo constituida por las muestras de todos los pacientes con VIH y pacientes con SIDA ambulatorios y hospitalizados, que se encuentran registrados como activos en la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con

VIH/SIDA del Hospital Regional “Isidro Ayora” de Loja, durante el período mayo a junio 2014.

Criterios de Inclusión:

- 1.- Encontrarse registrado en la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA, del Hospital Regional “Isidro Ayora” de la Ciudad de Loja.
- 2.- Tener historia clínica correspondiente en la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA
- 3.- Tener los datos completos debidamente registrados en la Historia Clínica.
- 4.- Paciente que reciba toda la información necesaria tanto verbal como documentación escrita, sobre el estudio a realizarse, se informe y aclare todas sus dudas que existieran sobre la realización del estudio.
- 5.- Paciente o representante legal que autorice la realización de las pruebas, a través de consentimiento informado y firmado, de manera voluntaria.

Criterios de Exclusión:

1. Paciente que no pertenezca a la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA del Hospital Regional “Isidro Ayora” de la Ciudad de Loja.
- 2.- Participantes cuyos datos de control médico no se encuentren registrados en la Historia Clínica.
- 3.- Todos aquellos pacientes que no autoricen a través del consentimiento informado o no acepten la realización de la pruebas.

4.5 Métodos.

Los métodos empleados fueron: el método inductivo, deductivo, analítico explicativo, estadístico; además para la elaboración del análisis se usó el método descriptivo.

Para identificar los serotipos de *Cándida* se realizaron cultivos en Agar Dextrosa Sabouraud-Cloranfenicol y cultivos mediante agotamiento de estrías en CHROMAgar *Cándida*, para identificar los serotipos de *Cándida* presentes en la muestras y se confirmaron mediante Espectrometría de Masas (MALDI-TOF)

4.5.1 Técnicas e instrumentos.

En la investigación realizada se emplearon las técnicas de tipo documental y técnicas de campo. Las técnicas de tipo documental que se emplearon fueron: el fichaje, lectura científica, redacción en la recopilación bibliográfica mediante fichas textuales, de resumen y mixtas. Dentro de las técnicas de campo se utilizó la observación, entrevista, encuesta, mediante una hoja de recolección de datos diseñada para el efecto. (Ver anexo 1)

4.6 Tipo de Investigación

El presente trabajo investigativo fue: de carácter exploratorio, descriptivo, prospectivo.

4.7 Diseño de Investigación

El presente estudio es de carácter longitudinal, que se llevó a cabo en la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA del Hospital Regional “Isidro Ayora” de la ciudad de Loja durante el período Mayo a Junio 2014, con la respectiva

autorización del director de la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA y la dirección médica del Hospital.

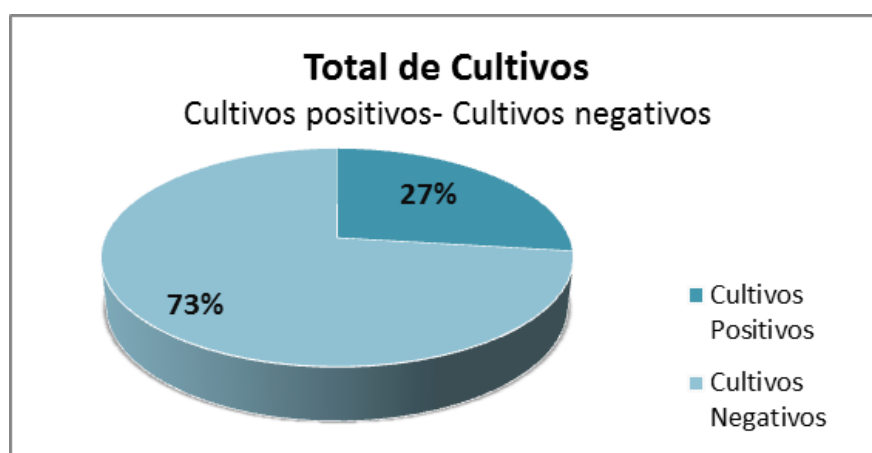
5. Resultados y Discusión

5.1 Resultados

Grafico 1.

Cultivos realizados: resultados positivos en relación a casos negativos

VARIABLE	Nro. de casos	%
Cultivos Positivos	31	27
Cultivos negativos	84	73
TOTAL	115	100



Fuente: Resultados de Investigación

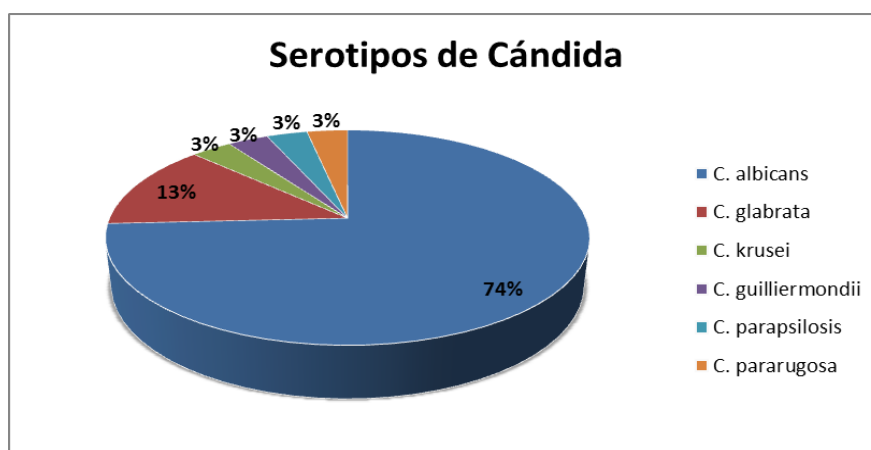
Elaborado por: Angel Pacheco Poma.

Del total de 115 casos se obtuvo un 27% (31 cultivos) de casos positivos para crecimiento de Cándida y un 73% (84 cultivos) de casos negativos.

Grafico 2.

Serotipos de *Cándida* bucal identificados.

VARIABLE: Serotipos de <i>Cándida</i>	Nro. de casos	%
<i>C. albicans</i>	23	74
<i>C. glabrata</i>	4	13
<i>C. krusey</i>	1	3
<i>C. guilliermondii</i>	1	3
<i>C. parapsilosis</i>	1	3
<i>C. pararugosa</i>	1	3
TOTAL:	31	100



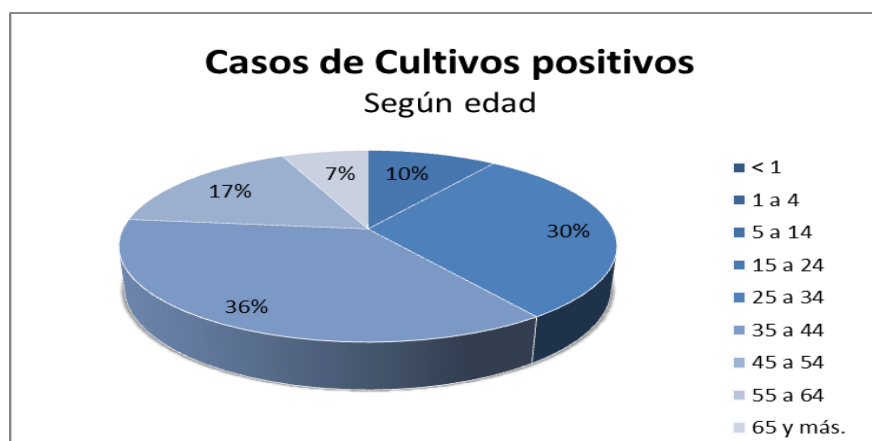
Fuente: Resultados de Investigación

Elaborado por: Angel Pacheco Poma.

Los serotipos de *Cándida* identificados dan como resultado el 74% (23 casos) de *Cándida albicans* constituyéndose el serotipo más frecuente, seguido de los siguientes serotipos en menor frecuencia de *Cándida glabrata* 13% (4 casos), *Cándida krusei* 3 % (1 caso), *Cándida guilliermondii* 3 % (1 caso), *Cándida parapsilosis* 3 % (1 caso), y *Cándida pararugosa* 3 % (1 caso).

Grafico 3.**Casos de Cándida según edad.**

VARIABLE: Años	Nro. de casos	%
< 1	0	0
1 a 4	0	0
5 a 14	0	0
15 a 24	3	10
25 a 34	9	29
35 a 44	12	39
45 a 54	5	16
55 a 64	0	0
65 y más.	2	6
TOTAL:	31	100



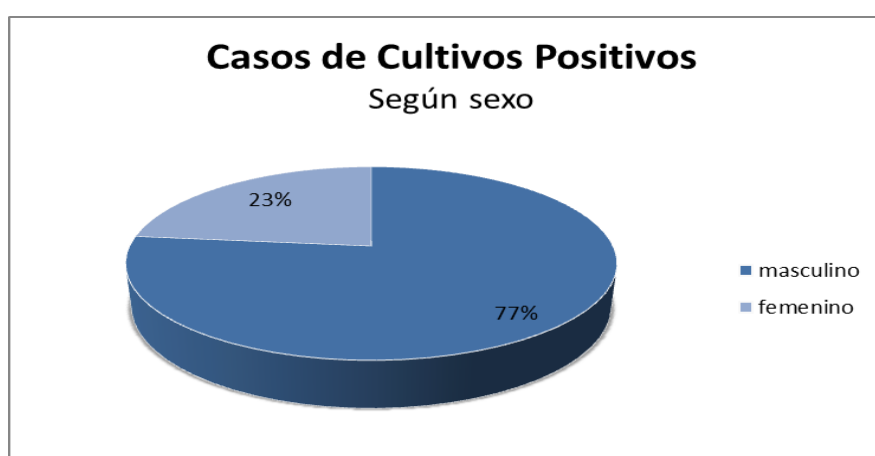
Fuente: Resultados de Investigación-
Elaborado por: Angel Pacheco Poma.

Los resultados de Cándida presentados en relación por edad de los pacientes, indica que el rango de 35 – 44 años se presenta como el grupo más afectado por Cándida con un 36%, seguido del rango de 25- 34 años en 30 %, en menor frecuencia de afectación los rangos de 45- 54 años con 17%, el rango de 15 a 24 años se presentan con un 10% de afectación y en menor frecuencia de presenta el 7% en el rango de 65 y más años.

Grafico 4.

Casos de Cándida según sexo.

VARIABLE: Sexo	Nro. de casos	%
Hombre	24	77
Mujer	7	23
TOTAL:	31	100



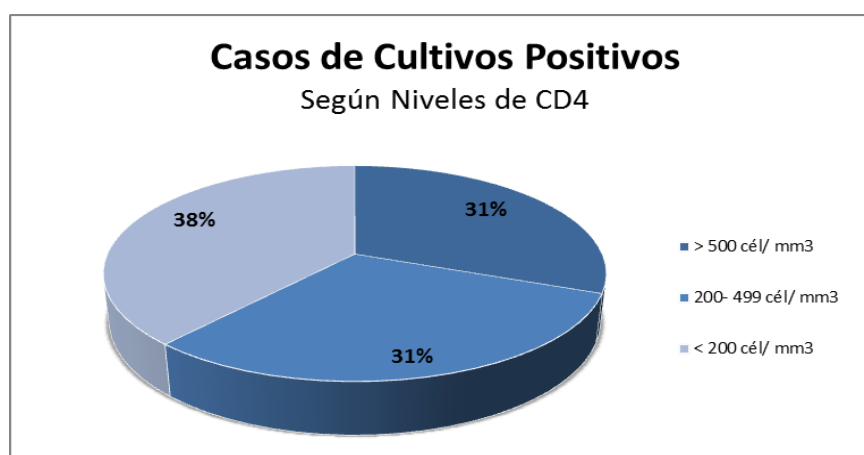
Fuente: Resultados de Investigación
Elaborado por: Angel Pacheco Poma.

Los casos de Cándida presentados en relación a sexo, determina que el sexo masculino es grupo más afectado por Cándida con un 77% en relación al grupo femenino con un 23% de afectación.

Grafico 5.

Casos de Cándida según niveles de CD4

VARIABLE: Nivel de CD4	Nro. de casos	%
> 500 cél/ mm ³	8	31
200- 499 cél/ mm ³	8	31
< 200 cél/ mm ³	10	38
TOTAL:	26	100



Fuente: Resultados de Investigación
Elaborado por: Angel Pacheco Poma.

Los resultados de Cándida presentados en relación a los niveles de CD4, determina que la presencia de Cándida afecta principalmente a las personas que presentan niveles de CD4 < 200 cél/ mm³ con un 38% de afectación, seguido en menor frecuencia con un 31% las personas que presentan niveles de CD4 de 200- 499 cél/ mm³ y el grupo de pacientes que presenta niveles de CD4 > 500 cél/mm³ presenta igualmente 31% de afectación por Cándida

5.2. Discusión

El estudio fue realizado a una muestra de 115 pacientes con infección por VIH (1 caso) y SIDA (114 casos), con características de edad, sexo, pacientes ambulatorios y pacientes hospitalizados de la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA del Hospital Regional “Isidro Ayora” de la Ciudad de Loja.

Las personas según la clasificación del CDC (1993) se distribuían en todas las categorías clínicas y de recuentos de los linfocitos CD4, entre pacientes asintomáticos (categoría A) y sintomáticos (categoría B y C), todos se encontraban acudiendo normalmente a los controles de CD4 y carga viral, la misma que dentro del programa del VIH/SIDA del MSP, las realizan cada 6 meses o de ser necesario lo realizan antes de este periodo según criterio médico y asisten a control médico mensual o bimensual y todos se encontraban recibiendo sus tratamientos antirretroviral, de acuerdo a lo normativa vigente del MSP. (MSP, Guía De Atención Integral VIH/SIDA, 2010).

En el estudio realizado a un total de 115 casos se obtuvo un 27% (31 cultivos) de casos positivos para crecimiento de *Cándida* y un 73% (84 cultivos) de casos negativos, identificando a la *Cándida albicans* como el serotipo más frecuente 74% (23 casos) que se presenta en los cultivos positivos, seguido en menor frecuencia de los serotipos como *Cándida glabrata* 13, 3%, *Cándida krusei* 3%, *Cándida guilliermondii* 3%, *Cándida parapsilosis* 3% y *Cándida pararugosa* 3%.

Este resultado concuerda con los resultados obtenidos por Mendoza, M (2005) en cuando a la prevalencia de *Cándida albicans* quien obtuvo como resultado la presencia entre el 60-70% de *C. albicans* en los aislamientos clínicos. También se relaciona con el realizado en el año 2012, Castrillo, S; Castrillo, M; Alvares, M; Castrillo, N, en el obtuvieron como resultados el aislamiento de *Cándida albicans* 66,6 % constituyéndose el serotipo más frecuente, y en el mismo año Gaitan (2012) realizó un estudio para

determinar la frecuencia de *Cándida* en cavidad bucal en 60 niños mexicanos con VIH/SIDA identificando que el 51,7% son portadores asintomáticos de *Cándida albicans*. El resultado obtenido en la investigación realizada concuerda con los estudios previos al determinar que el serotipo *Cándida albicans* es el de mayor frecuencia.

Relacionado con la edad, en el rango de 35 a 44 años presentaron predominantemente los cultivos positivos para *Cándida* en cavidad bucal, determinando a este rango de edad como el grupo etario más afectado por *Cándida*.

En relación con la presencia de la *Cándida* y el género, el masculino se presentó con 77% (23 casos) y el femenino con 23% (7 casos), observándose predominancia del masculino, constituyéndose en un dato no significativo, porque la mayoría de los pacientes registrados en la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA del Hospital Regional "Isidro Ayora" de la Ciudad de Loja, son de sexo masculino (74%) (Archivo: Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA).

En cuanto al grupo de afectación de pacientes con VIH en relación a pacientes con SIDA, no se logró realizar por cuanto el grupo investigado en un 99% está integrado por pacientes considerados como casos de SIDA según clasificación de CDC, y el 1 % corresponde a pacientes clasificados como casos de VIH. (MSP, Guía De Atención Integral VIH/SIDA, 2010)

Los casos de *Cándida* presentados según los niveles de CD4 determina que la presencia de *Cándida* afecta principalmente a las personas que presentan niveles de CD4 < 200 cél/ mm³ con un 38% de afectación, seguido en menor frecuencia con un 31% las personas que presentan niveles de CD4 de 200- 499 cél/ mm³, determinándose que la *Cándida* afecta principalmente a los pacientes que presentan niveles de CD4 < 200 cél/ mm³, estos datos se relacionan y concuerdan con la bibliografía consultada. Lo cual apoya

la afirmación de que su presencia afecta más a las personas que presentan niveles de CD4 < 200 cél/ mm³ (MSP, Guía De Atención Integral VIH/SIDA, 2010). Según, Choappa (2013) en pacientes con VIH y SIDA la Candidiasis orofaríngea es la infección oportunista más común en estadios iniciales y finales de la enfermedad, presentándose en un 75% de los pacientes infectados, la que ocurre principalmente cuando el número de linfocitos TCD4+ es inferior a 500 cel/ mm³.

Del análisis cuantitativo, cualitativo y la respectiva deducción teórica practicada a la hipótesis, concluimos que en la mayoría de datos referentes a la investigación determinan la presencia del 74% de *Cándida albicans*. Por lo tanto se confirma la hipótesis planteada.

6. Conclusiones.

1. En nuestro estudio realizado a un total de 115 casos se obtuvo un 27% (31 cultivos) de casos positivos para crecimiento de *Cándida* y un 73% (84 cultivos) de casos negativos.
2. Se determinó que *Cándida albicans* como el serotipo aislado más frecuente 74%, seguido en menor frecuencia de los serotipos como *Cándida glabrata* 13%, *Cándida krusei* 3%, *Cándida guilliermondii* 3%, *Cándida parapsilosis* 3% y *Cándida pararugosa* 3%.
3. El grupo etario 35 a 44 años se determina como el grupo con mayor frecuencia de afectación por *Cándida*.
4. Se determina que la *Cándida* afecta principalmente a las personas que presentan niveles de $CD4 < 200 \text{ células/mm}^3$ con un 38% de afectación de población en estudio.

7. Recomendaciones

1. Para el diagnóstico y tratamiento oportuno de candidiasis debería ser siempre mediante pruebas de laboratorio, incluyendo pruebas como los cultivos, para identificar los agentes causales como *Cándida albicans*, sin embargo especies de cándidas no albicans suelen ser menos sensibles a los azoles y pueden ser más virulentas.
2. Es importante realizar el diagnóstico oportuno de candidiasis, porque va en aumento la aparición de cepas menos sensibles a los antimicóticos.
3. Continuar realizando estudios de tipo investigativo en este grupo de personas, cuyos resultados de las investigaciones permita brindar un aporte a la parte médica y a mejorar sus condiciones de vida de los pacientes.
4. Realizar investigaciones mediante pruebas de Biología molecular para la identificación de los serotipos de Cándida, lo cual permitirá conocer con mayor exactitud los serotipos presentes en estos pacientes.

8. Bibliografía

- Acosta, Lina (2014). *Micosis superficiales*. Rev. Asoc Colomb Dermatol; 22: 4 (Octubre-Diciembre), 278-290. Recuperado de: <http://revistasocolderma.org/files/Micosis%20superficiales.pdf>.
- Aguirre-Urizar JM, Echebarría-Goicouría MÁ, Eguía-del Valle A. “Síndrome de inmunodeficiencia adquirida: manifestaciones en la cavidad bucal”. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2004; 9 Suppl:S 148-57 Recuperado de: http://www.medicinaoral.com/pubmed/medoralv9suppl_i_p153.pdf
- Arenas, R. (2011). *Micología Medica Ilustrada*. Editorial Mcgraw-Hill Interamericana.
- Bailey & Scott. (2009). *Diagnostico Microbiológico*. (12 ed.). Buenos Aires: Editorial Medica Panamericana.
- Biasoli, Marisa (2013). *Infecciones producidas por levadura*. Recuperado de: http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/file.php/118/MATERIALES_2013/TEORICO_S_2013/CANDIDIASIS_2013-1.pdf.
- BIO-RAD, *Auxanograma Colorimétrico para la identificación de las principales levaduras de interés médico*, Recuperado de: <http://br-licitamex.com.mx/CDG/INSTRUCTIVOS%20Y%20MANUALES/CMD%20Clinic al%20Microbiology%20Division/56513-Auxacolor%202.pdf>.

Brevis, P, et al, (2012). *Distribución de lesiones bucales producidas por Candida albicans en pacientes VIH/SIDA*. Boletín Micológico Vol. 27: 24-28. Recuperado de: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:NXjhgfZFe8gJ:portals3.uv.cl/index.php/Bolmicol/article/download/62/46+&cd=3&hl=es-419&ct=clnk>.

Brevis, Pedro (2009). *Asociación de LT-CD4 y carga viral con candidiasis bucal en pacientes VIH/SIDA en Talca, Chile*. Recuperado de: http://www.bvs.sld.cu/revistas/est/vol_46_04_09/est02409.htm

Calabuig, Eva. () *Manifestaciones de la cavidad oral*. Hospital Universitario La Fe, Valencia. Recuperado de: http://www.educasida.es/sites/default/files/Manif_Orales_VIH%20navarro.pdf.

Camacho Dayana, et al (2012). *Evaluación de diversos métodos fenotípicos para la diferenciación entre Candida dubliniensis y Candida albicans*. Kasma. Enero - junio 2012. 40 (1): 47 – 58. Recuperado de: <http://revistas.luz.edu.ve/index.php/km/article/viewFile/10666/10327>.

Caminero, Antonio. (2013). *Identificación, caracterización y ensamblaje de nuevos componentes manoproteicos de la pared celular de Cándida albicans*. Tesis doctoral. Recuperado de: <https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=5&ved=0CDUQFjAEahUKEwj0-raLqJPJAhXIVh4KHYY01A-A&url=http%3A%2F%2Fmobiroderic.uv.es%2Fbitstream%2Fhandle%2F10550%2F30114%2FTesis%2520doctoral.pdf%3Fsequence%3D1%26isAllowed%3Dy&usg=A>

FQjCNGCINBY5ntcdqDNTbwCeR6SxQ94Qw&bvm=bv.107467506,d.dmo&cad=rja

Casnati, Beatriz E et al. (2011). *Valoración del tratamiento local de la candidosis oral.*

Revista Odontoestomatología. V. 13, N. 18. Montevideo. Recuperado de:
http://www.scielo.edu.uy/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1688-93392011000200007&lng=es&nrm=iso>.

Castrillo, M; et al, (2012). *Especies de Candida en pacientes VIH/SIDA con candidiasis*

orofaríngea. V.50. N3. Recuperado de: <http://bases.bireme.br/cgiin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=676707&indexSearch=ID>.

Chauca Eduardo, Edwards (2004) *El paciente VIH/SIDA.* Manual de Manejo Clínico

Estomatológico, Peru. 2004. Recuperado de:
<http://www.bvsde.paho.org/texcom/cd050854/chaucacl.pdf>.

Choappa, C. (2013). *Micosis mucocutáneas en pacientes con VIH-SIDA de la ciudad de*

Valparaíso, Chile. Rev. Argent. dermatol. V.94 N.4. Buenos Aires. Recuperado de:
http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S1851-300X2013000400002&script=sci_arttext#notas

Cuenca Manuel. et al. (2006). *Diagnóstico microbiológico de las micosis y estudios de*

sensibilidad a los antifúngicos. Documento científico procedimiento en microbiología clínica. Sociedad Española de Enfermedades. 2006. P 1- 69.

Recuperado de:

<http://www.seimc.org/documentos/protocolos/microbiologia/cap21.pdf>

El Diario (2013). *VIH-SIDA: una realidad diferente en Ecuador*. El Diario. Lunes, 07 Octubre 2013. Medios Ediasa. Portoviejo- Ecuador. Recuperado de: <http://www.eldiario.ec/noticias-manabi-ecuador/287671-vih-sida-una-realidad-diferente-en-ecuador>.

Espinoza, C. (2008). *Candemias Nosocomiales: patrones de cambios clínico epidemiológico factores pronóstico e influencia del tratamiento anti fúngico precoz en su evolución, 2002- 2005*, (Tesis Doctoral). Murcia. Recuperado de: <http://digitum.um.es/xmlui/bitstream/10201/3267/1/EspinosaSierra.pdf>

Gaitán Luis; Sánchez Luis, Pavia Noris; Muñoz Rocio; Villegas Julio, Caballos-Alejandro. (2012). *Candida bucal en niños mexicanos con VIH/SIDA, desnutrición o marginación social*. Revista Panamericana de Salud Publica V.31, N.1. Recuperado de: <http://dx.doi.org/10.1590/S1020-49892012000100007>

Gamazo, Carlos. Et al. (2005). *Manual práctico de microbiología*. (3 ed.). Barcelona-España: Masson S.A.

García, Rafael. et al. (2009) *Candida glabrata, un oportunista emergente en vulvovaginitis*. Revista Biomédica Mexicana. Mexico. 77 (6). 455- 460. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=66212714007>

García Vidal C, Carratalá J. (2012) *“Patogenia de la infección fúngica invasora”* Enfermedades infecciosas y Microbiología Clínica. Elsevier. Marzo 2012. 30. (03). 151-158. Recuperado de: <http://zl.elsevier.es/es/revista/enfermedades-infecciosas-microbiologia-clinica-28/articulo/patogenia-infeccion-fungica-invasora-0098225?referer=buscador#elsevierItemBibliografias>

Guevara M, Urcia F, Casquero J. (2007). *Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes*. Lima: Instituto Nacional de Salud; 2007. Serie de Normas Técnicas N°44.

Guilarte, C. Pardi, G. (2009). *Pruebas para identificar especies de Candida en cavidad bucal*. Caracas- Venezuela. V.47 N.3 Caracas. Recuperado de: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S00013652009000300027&script=sci_arttext.

Koneman. (2009). *Diagnóstico Microbiológico*. 6ª ed. Editorial Médica Panamericana S.A. Argentina.

La Hora (2012). *Aumentos casos de SIDA en el Ecuador*. Diario La Hora 26 de Agosto del 2012. Quito- Ecuador. Recuperado de: http://ecuadorinmediato.com/index.php?module=Noticias&func=news_user_view&id=180158&umt=la_hora_quito_aumentan_casos_sida_en_ecuador

La Hora (2015). *En Ecuador cerca de 20 000 personas padecen de VIH*. Diario La Hora, 23 de Agosto de 2015, Edición # 4036. Recuperado de:

[http://ecuadorinmediato.com/index.php?module=Noticias&func=news_user_view
&id=186596&umt=en_ecuador_cerca_20_000_personas_padecen_vih](http://ecuadorinmediato.com/index.php?module=Noticias&func=news_user_view&id=186596&umt=en_ecuador_cerca_20_000_personas_padecen_vih)

Linares, M. Solís, F. (2007) *Identificación de Levaduras*. Revista Iberoamericana de Micología. Asociación Española de Micología. p 11.1 – 11.20. Recuperado de: [//www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo11.pdf](http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo11.pdf)

Lobaina, T.(2010). *Métodos Cromogénicos y Fluorogénicos para el diagnóstico de especies de Candida de relevancia clínica* [Tesis doctoral]. La Habana Recuperado de: http://tesis.repo.sld.cu/303/1/tamara_lobaina.pdf

Ministerio de Salud Pública- Ecuador (2010) *Guía De Atención Integral VIH/SIDA 2010*.

Ministerio de salud- Perú (2007). *Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humana*". Serie de normas técnicas N°44. Perú. 2007. Recuperado de: <http://www.ins.gob.pe/insvirtual/images/otrpubs/pdf/Manual%20Hongos.pdf>

Mendoza, (2005) *Importancia de la identificación de levaduras*. Rev. Soc. Ven. Microbiol. V.25 N.1, Caracas Venezuela. Recuperado de: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S1315-25562005000100004&script=sci_arttext.

OPS. (2004). *Manual de capacitación en el manejo integral de personas adultas que viven con el VIH/SIDA para equipos de atención primaria y comunitarios en*

Latinoamérica y el Caribe. Washington, D.C. Recuperado de:
https://www.google.com.ec/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=0CBsQFjAAahUKEwjysOD3r5PJAhVFKx4KHQcRCMc&url=http%3A%2F%2Fwww.ministeriodesalud.go.cr%2Fgestores_en_salud%2Fderechos%2520humanos%2Fsida%2F2004ops1.PDF&usg=AFQjCNHGnrnAvT91YoLYCxAxc6D-_G1gg&bvm=bv.107467506,d.dmo

Palacios C, (2011). *Candidiasis mucocutánea: espectro clínico*. Rev Asociación Colombiana de Dermatología. 19: 239-244.

Perurena, M. et al. (2001). *Candida albicans serotipo B en pacientes seropositivos al virus de inmunodeficiencia humana*. Rev Cubana Med Trop. V.53 N.3 Ciudad de la Habana. Recuperado de:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602001000300013.

Prieto, L. et al (2006) *Candidiasis oral en pacientes seropositivos al VIH y casos SIDA. Aspectos clínicos, micológicos y terapéuticos*. Rev Cubana Med Trop V.58 (3)
 Recuperado de: http://bvs.sld.cu/revistas/mtr/vol58_3_06/mtr01306.htm.

Puerto J. et al. (2001) *Candidiasis orofaríngea*. Rev Diagn Biol [revista en la Internet]. 2001 Dic [citado 2015 Nov 08] 50(4): 177-181. Recuperado de:
http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-79732001000400001&lng=es.

Quezada. Et al. (2007). *Candida dubliniensis*. Revista médica de Costa Rica y Centroamerica. LXIV (578) 43-48; 2007. Recuperado de: <http://www.binasss.sa.cr/revistas/rmcc/578/art9.pdf>

Sánchez, Auristela. (2008). *Atlas de Micología Médica*, Universidad Nacional Experimental "Francisco de Miranda", Venezuela. Recuperado de: <http://atlasdemicologia.blogspot.com/>

Sánchez, Leonardo. et al. (2009). *Infecciones micóticas superficiales*. Dermatología Peruana. Artículo de Revisión. Vol 19 (3). Recuperado de: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v19_n3/pdf/a09v19n3.pdf.

Sánchez, Leonardo. et al (2010). *Infecciones micóticas sistémicas o profundas: paracoccidioidomycosis*. Dermatología. Artículo de Revisión. Perú, Vol 20(1). Recuperado de: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v20_n1/pdf/a09v20n1.pdf.

Sánchez, Leonardo. et al (2010). *Infecciones micóticas sistémicas o profundas: coccidioidomycosis*. Dermatología. Artículo de Revisión. Perú, Vol 20(1). Recuperado de: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/dermatologia/v20_n3/pdf/a07v20n3.pdf.

Rubio, Ma. Carmen. (2001) *Micosis más frecuentes en nuestro medio*. Revista Iberoamericana de Micología. Asociación Española de Micología. Recuperado de: <http://www.guia.reviberoammicol.com/Capitulo2.pdf>.

Ugalde, M. (2008). *Prevalencia de Cándida en cavidad oral en pacientes diabeticos tipo 2*.

[Tesis Doctoral]. Granada. Editorial Universidad de la Granada. Recuperado de:

<http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/2065/1/17677968.pdf>.

Anexos

Anexo 1: Hoja de recolección de datos

[illegible]

Anexo 2: Consentimiento Informado para toma de muestra.**CONSENTIMIENTO PARA LA PRUEBA**

Estimado paciente:

Con la finalidad de realizar el estudio de investigación titulado, **“Serotipos de *Cándida* aisladas en muestras de hisopado bucal en pacientes con VIH/SIDA, Hospital Regional “Isidro Ayora”. Ciudad de Loja”**, solicito su participación tras haber recibido información sobre:

- ☐ Micosis, Candidiasis.
- ☐ La forma de toma de muestra.
- ☐ El derecho a la confidencialidad.

Por este medio hago constar que participo voluntariamente en la investigación, conociendo que:

- **Someterse a este estudio no existe riesgo alguno para mi salud.**
- **La participación puede resultar de beneficio personal, así como aportar nuevos conocimientos.**

Además, tengo derecho a:

- **Recibir información y explicación previas del estudio a realizarse.**
- **Conocer los resultados que se obtengan en lo relativo a mi persona.**
- **Que, la información brindada en el estudio será manejada en total Confidencialidad.**

Por la presente doy mi autorización para la realización de la investigación y la toma de muestras por parte del investigador.

Fecha: aa/mm/dd. _____

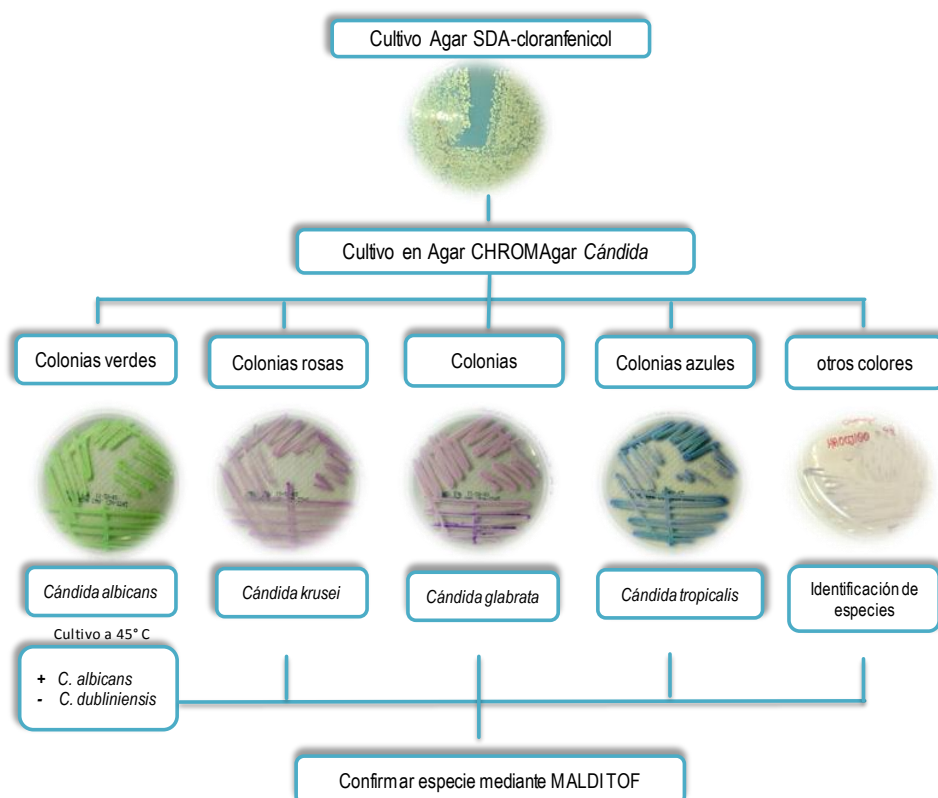
Nombre: _____

CI: _____

Edad: _____ Firma: _____

Anexo 3: Esquema de identificación y diagrama diagnóstico para las levaduras

Esquema de identificación y diagrama diagnóstico para las levaduras



Anexo 4: Fotografías de identificación para las levaduras.



Gráfico: Cultivo en agar SDS-cloranfenicol.

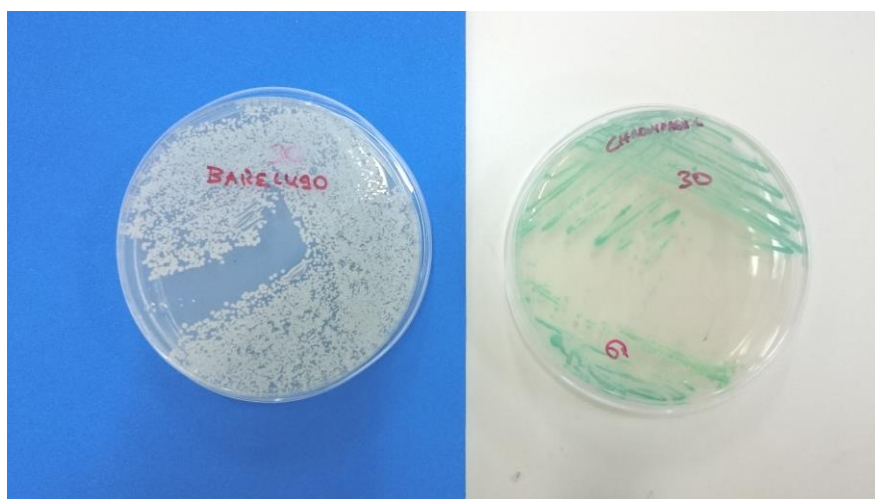


Gráfico: Cultivo en Agar SDS (izq) y *Cándida albicans* en CHROMAgar (der)



Gráfico: Cultivo en Agar SDS (izq) y *Cándida glabrata* en CHROMAgar (der)

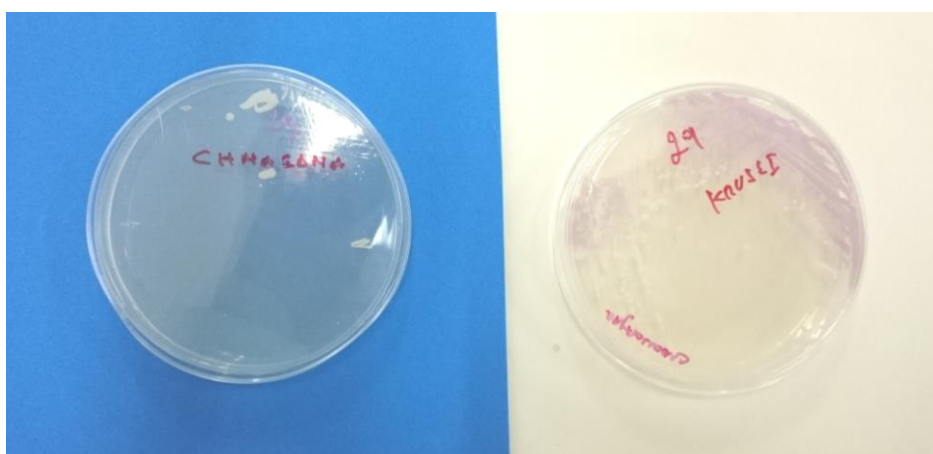


Gráfico: Cultivo en Agar SDS (izq) y *Cándida krusey* en CHROMAgar (der)

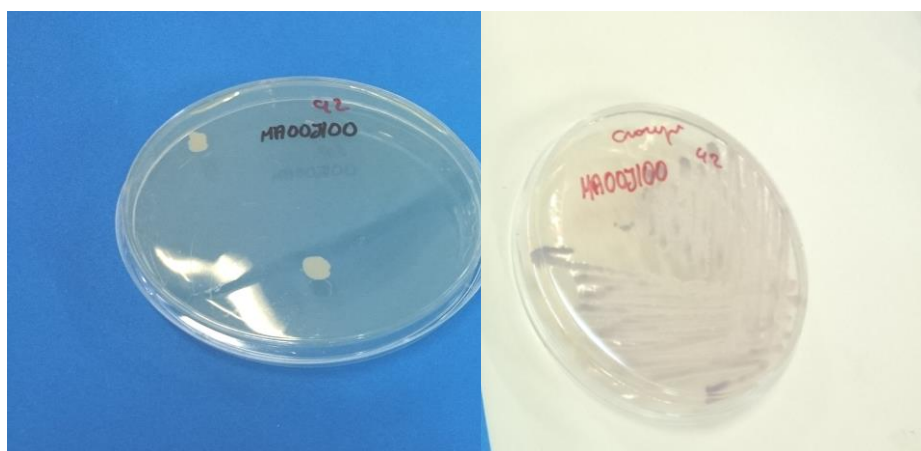


Gráfico: Cultivo en Agar SDS (izq) y *Cándida pararugosa* en CHROMAgar (der)



Presidencia
de la República
del Ecuador



Plan Nacional
de Ciencia y Tecnología



SENESCYT

SECRETARÍA NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA
CARRERA, TÉCNICO Y PROFESIONAL

REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FICHA DE REGISTRO DE TESIS

TÍTULO Y SUBTÍTULO:

SEROTIPOS DE CANDIDA AISLADAS EN MUESTRAS DE HISOPADO BUCAL EN PACIENTES CON VIH/SIDA HOSPITAL REGIONAL "ISIDRO AYORA". LOJA, MAYO- JUNIO 2014

AUTOR:

ANGEL OMAR PACHECO POMA

TUTOR:

DR. JUAN CARLOS RUIZ CABEZAS M. D. M. Sc.

REVISOR:

DR. CARLOS MOSQUERA

INSTITUCION: UNIVERSIDAD DE
GUAYAQUIL

FACULTAD:

CARRERA: MAESTRIA EN MICROBIOLOGIA- MENCION BIOMEDICA

FECHA DE PUBLICACION: 2016

No. DE PAGS: 85

AREAS TEMATICAS: VIROLOGIA, MICOLOGIA

PALABRAS CLAVE: Candidiasis, *Candida albicans*, patógenos oportunistas, VIH, SIDA, cultivos, serotipos.

RESUMEN:

La investigación se realizó para identificar los serotipos de *Candida*, causantes de Candidiasis oral una infección micótica oportunista en personas con VIH/SIDA, frecuentemente causada por *Candida albicans* considerándose como la más patógena, sin embargo especies de *Candida* no *albicans* suelen ser menos sensibles a los azoles y pueden ser más virulentas como *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida dubliniensis*, como patógenos oportunistas en la cavidad oral en los pacientes con VIH y SIDA. La investigación se realizó en la Unidad de Atención Integral a personas viviendo con VIH/SIDA, del Hospital Regional "Isidro Ayora" de la ciudad de Loja, con un total de 115 personas de los cuales 1 casos corresponde a VIH y 114 casos de SIDA, se obtuvo como resultado un 27% (31 cultivos) de casos positivos para crecimiento de *Candida* y un 73% (84 cultivos) de casos negativos en Agar Dextrosa Sabouraud-Cloranfenicol. Los casos positivos se cultivaron en CHROMAgar *Candida* para identificar los serotipos de *Candida* obteniendo como resultados 74% (23 casos) de *Candida albicans* constituyéndose el serotipo más frecuente, seguido de los siguientes serotipos en menor frecuencia *Candida glabrata* 13,3% (4 casos), *Candida krusei* 3% (1 caso), *Candida guilliermondii* 3% (1 caso), *Candida parapsilosis* 3% (1 caso) y *Candida pararugosa* 3% (1 caso).

No. DE REGISTRO (en base de datos):

No. DE CLASIFICACION:

DIRECCION URL (tesis en la web):

ADJUNTO PDF:

☒ SI

☐ NO

CONTACTO CON
AUTOR/ES:

Teléfono:
0992306192

E-mail:
angel-pac@hotmail.com
angel-pac@outlook.com

CONTACTO EN LA
INSTITUCION:

Nombre: SECRETARIA DE LA ESCUELA DE GRADUADOS
Teléfono: 2288086
E-mail: egraduadosug@hotmail.com