

11262

6

2es



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE MEDICINA

División de Estudios de Posgrado e Investigación

CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI

I. M. S. S.

FRECUENCIA, SEROTIPO Y SUSCEPTIBILIDAD  
IN VITRO DE CANDIDA ALBICANS EN LA  
BUCOESOFAGITIS DE PACIENTES CON  
SINDROME DE INMUNODEFICIENCIA  
ADQUIRIDA

T E S I S

Que para obtener el grado de

MAESTRA EN ~~Ciencias~~ *Ciencias Médicas*

p r e s e n t a

VERONICA ALEJANDRA GAONA FLORES



México, D. F.

260949 Octubre 1998

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

# Índice

INTRODUCCIÓN	4
CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES	5
PATOGENIA	6
SUSCEPTIBILIDAD DE CANDIDA	8
CANDIDOSIS Y SIDA	9
CANDIDOSIS BUCAL	9
CANDIDOSIS ESOFÁGICA	10
IDENTIFICACIÓN	10
TRATAMIENTO DE LA CANDIDOSIS BUCAL Y ESOFÁGICA	11
MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS TRIAZOLES	11
RESISTENCIA ANTIMICÓTICA	12
MATERIAL Y MÉTODO	14
UNIVERSO DE TRABAJO	14
CRITERIOS DE INCLUSIÓN	14
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN	14
CRITERIOS DE ELIMINACIÓN	15
MÉTODOS MICOLÓGICOS	15
OBTENCIÓN DEL ESPECIMEN	15
BUCAL	15
ESOFÁGICO	15
PROCESAMIENTO DEL ESPÉCIMEN	16
OBSERVACIÓN DIRECTA	16
CULTIVO	16
IDENTIFICACIÓN	16
CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA	16
FILAMENTACIÓN EN SUERO HUMANO	17
PROCEDIMIENTO	17
PRODUCCIÓN DE CLAMIDOCONIDIOS	17
PROCEDIMIENTO	18
IDENTIFICACIÓN DE ESPECIE POR EL MÉTODO AUTOMATIZADO VITEK.	
® BIOMÉRIEUX	18
PROCEDIMIENTO	19
SEROTIPOS	19
PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DEL ANTISUERO	19

SEROTIPIFICACIÓN	20
SUSCEPTIBILIDAD ANTIFÚNGICA	21
GALERIAS ATB FUNGUS	21
DESCRIPCIÓN	21
MINI API, ® BIOMÉRIEUX GALERIAS DE LECTURA AUTOMÁTICA	21
FUNCIONAMIENTO DEL LECTOR	22
PROCEDIMIENTO	23
MÉTODO DE BAUER – KIRBY O DE DIFUSIÓN EN AGAR PARA FLUCONAZOL	23
DESCRIPCIÓN OPERACIONAL	24
CRITERIOS DIAGNÓSTICOS DE CANDIDOSIS	25
DEFINICIÓN DE RESISTENCIA <i>IN VITRO</i>	25
RESULTADOS	26
DISCUSIÓN	37
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	41

**FRECUENCIA, SEROTIPO Y SUSCEPTIBILIDAD  
*IN VITRO* DE *CANDIDA ALBICANS* EN LA  
BUCOESOFAGITIS DE PACIENTES CON  
SÍNDROME DE INMUNODEFICIENCIA  
ADQUIRIDA**

GAONA FLORES V, URDEZ HERNANDEZ ELENA, LOPEZ MARTINEZ  
R, HERNANDEZ HERNANDEZ F, ANTONIO MANRIQUEZ M, ROJAS ML,  
GARCIA P, FRIAS MENDIVIL M.

UNA VEZ MAS.....

GRACIAS SEÑOR.

Has permanecido conmigo y eres la guía que orienta mi camino.

Esto es una meta más que comparto con:

MI MADRE;  
EL RECUERDO DE SANTA BARRERA;  
MI ESPOSO;  
MIS HIJAS;

MI agradecimiento al Biólogo Rafael Romero M. pasante QFB Lucia Martínez L. QBP Bertha Muñoz, Bióloga Elba Bazan, Dr. Miguel Angel Chávez. Y muy especialmente a la Dra. Conchita Toriello.

Por su ayuda estaré en deuda por siempre con mis primos Guillermo, Edmundo y Gilberto Silva Alonso.

Al Instituto Mexicano del Seguro Social y a sus pacientes que han sido la fuente de aprendizaje para mí.

GRACIAS a todos los que creyeron y a los que no creyeron en mi.

**FRECUENCIA, SEROTIPO Y SUSCEPTIBILIDAD *IN VITRO* DE *CANDIDA ALBICANS* EN LA BUCOESOFAGITIS DE PACIENTES CON SÍNDROME DE INMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA**

**DRA. ELENA URDEZ HERNANDEZ  
TUTOR**

  
**DR. RUBEN LOPEZ MARTINEZ  
ASESOR**

**Frecuencia, Serotipo Y Susceptibilidad *In Vitro* De *Candida albicans* En La Bucoesofagitis De Pacientes Con Síndrome De Inmunodeficiencia Humana.** GAONA-FLORES V, URDEZ-HERNÁNDEZ E, LÓPEZ-MARTÍNEZ R, HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ F, ANTONIO-MANRIQUEZ M, ROJAS ML, GARCIA P, FRIAS MENDIVIL M.

**INTRODUCCIÓN.** La candidosis es una entidad común en el tracto digestivo superior de pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), en los que la afección bucal comprende el 90% y la esofágica, 14%. *Candida albicans* suele ser el agente más común, pero otras especies de *Candida* pueden comprender hasta un 24%. Su resistencia a diversos antimicóticos ha sido evidente durante los últimos años.

**OBJETIVO.** Determinar la frecuencia, el serotipo de *C. albicans*, y la susceptibilidad a los antifúngicos más usuales en pacientes con SIDA y candidosis bucal y/o esofágica (CB-E).

**DISEÑO.** Estudio descriptivo.

**INSTITUCIONES.** Hospital de Infectología de CMN LA RAZA, IMSS y Laboratorio de Micología Médica en la Facultad de Medicina de la UNAM.

**PACIENTES.** Durante 28 meses se estudiaron 147 casos con SIDA y datos clínicos de (CB-E), de quienes se obtuvieron los siguientes datos: sintomatología bucal y/o esofágica, historia de tratamiento farmacológico, cifra de linfocitos CD4+ y definición clínica de lesiones compatibles con (CB-E). De éstas, se obtuvieron especímenes para examen directo y cultivo; a todo desarrollo sugestivo de *Candida* se le realizó lo siguiente: determinación de especie mediante filamentos en suero humano, producción de clamidoconidios y pruebas bioquímicas; definición de serotipo A y B, por el método de aglutinación en placa; determinación del perfil de susceptibilidad con un método automatizado, para 6 antifúngicos, y mediante difusión en agar, para fluconazol.

**MEDICIONES.** Frecuencia de las variedades clínicas de candidosis, especies involucradas, serotipos A y B de *C. albicans* y perfil de susceptibilidad para los antimicóticos.

**RESULTADOS.** El 87% (128) de los pacientes fueron hombres, con edad media de 34 años (DS±9 años); el 40% manifestó más de 5 episodios previos de CB; el 82% recibió de 2 a 6 fármacos, entre los cuales los antimicóticos representaron el 63%. La candidosis afectó boca y esófago en el 57% (84) de los pacientes; en ambas topografías la combinación de 2 o más lesiones fue común. Entre 231 cepas aisladas, el 88% correspondió a *C. albicans*, con prevalencia del serotipo B (63%), y el 9%, a *C. no albicans*. Respecto a la susceptibilidad, *C. albicans* mostró a ketoconazol, fluconazol y nistatina en 48%, 9% y 6% respectivamente.

**CONCLUSIÓN.** Este estudio muestra a *C. albicans* serotipo B como el germen prevalente en la candidosis bucal y esofágica de los pacientes con SIDA. La existencia de resistencia para antimicóticos de uso frecuente en la práctica clínica es un hecho, como lo es la emergencia de otras especies de *Candida*. Por tanto, la implementación de un sistema para vigilar especie y susceptibilidad de *Candida* spp., resultaría muy útil para la prescripción racional de una terapia antifúngica.



**Frequency, Serotype and Susceptibility profile of *Candida albicans* in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome.** GAONA-FLORES V, URDEZ-HERNÁNDEZ E, LÓPEZ-MARTÍNEZ R, HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ F, ANTONIO-MANRÍQUEZ M, ROJAS ML, GARCIA P, FRIAS-MENDIVIL M.

**INTRODUCTION.** In patients with acquired immunodeficiency Syndrome (AIDS) oral and esophageal candidosis have rates of 90% and 14% respectively. In such ailments *Candida albicans* has been the leading agent and has shown antifungal resistance during last years.

**OBJECTIVE.** To determine the frequency of *C. albicans*, its serotype and the fungal susceptibility pattern of bucal and/or esophageal isolates from AIDS patients complaining candidosis.

**DESIGN.** Descriptive study.

**SETTING.** Infectious diseases Hospital, National Medical Center, La Raza Mexican Institute of Social Security, and Micology Laboratory of Medical School, National Autonomous Mexican University.

**PATIENTS.** During a 28-month period 147 AIDS individuals with complaints suggestive of bucal and/ or esophageal candidosis (B/EC) were studied, compiling next data: Clinical symptoms, previous drug therapy, CD4+ cells count, and clinical features of those possible B/EC lesions. From these, specimens were obtained for wet mount and fungi culture; in all growths, germ tube test, morphology on cornmeal agar, and biochemical profile identified the species; agglutination plate testing defined serotypes A and B of *C. albicans*; antifungal susceptibility testing was made using an automatic system for six antimicotic agents, and agar diffusion method, for fluconazole.

**MEASUREMENTS.** Prevalent clinical features of B/EC, *Candida* species, serotype A and B distribution, and antimicotic susceptibility profile.

**RESULTS.** Of 128 AIDS patients, 87(60%) were men, with a mean age of 34 years  $\pm$  (SD 9 años); a 40% of them had history of more than five oral candidosis episodes and 63%, of antifungal therapy. Candidosis affected both mouth and esophagus in 57%; a mixture of clinical features was common. Of all 231 isolates, a 88% was *C. albicans*, a 9%, other *Candida* species. Serotype B of *C. albicans* reached a 63%; resistance rates for ketoconazole, fluconazole, and nystatin were of 48%, 9%, and 6% respectively.

**CONCLUSION.** This study shows *C. albicans* serotype B as prevalent agent of bucal and or esophageal candidosis in AIDS population. There is not question about the resistance against antifungal agents commonly prescribed or about the emergency of other *C.* species; thus, a surveillance system should be useful to get a rational antifungal therapy.

## INTRODUCCIÓN

La candidosis es una infección primaria o secundaria, causada por diversas especies del género *Candida* que afecta sujetos inmunocomprometidos, predominantemente. Mientras que la primera descripción, en su variedad bucal, la efectuó Hipócrates (siglo IV a. C), en pacientes con tifo, sus presentaciones esofágica y vaginal fueron descritas hasta el siglo XIX (d. C).

En este siglo la nomenclatura propuesta para *Candida* se modificó en 5 ocasiones. Hacia 1883 Zenker le asignó el nombre de *Oidium albicans*. En 1868 Quinquard la denominó *Syringospora robinii*, ambos nombres binomiales tuvieron corta vigencia. En 1877 Rees propuso el nombre de *Saccharomyces albicans*. En 1890, Zopf la denominó *Monilia albicans* recurriendo al nombre original; sin embargo este género comprendía hongos filamentosos presentes en la fruta, morfológica y fisiológicamente diferentes. Finalmente en 1954, el nombre genérico *Candida* se aceptó por el VIII Congreso de Botánica en París.

(1)

El género *Candida* está conformado por levaduras dimórficas, algunas de las cuales forman parte de la biota normal. Su clasificación taxonómica es la siguiente(2):

DIVISIÓN	<i>Eumycota</i>
SUBDIVISIÓN	<i>Deuteromycotina</i>
CLASE	<i>Blastomycetes</i>
ORDEN:	<i>Cryptococcales</i>
FAMILIA:	<i>Cryptococcaceae</i>
GÉNERO:	<i>Candida</i>
ESPECIES:	<i>albicans, tropicalis, stellatoidea, krusei, glabrata, parapsilosis, kefir, guilliermondii, famata, zeylanoides etc.</i>

El carácter oportunista de *Candida* sp ha sido evidente en los pasados 20 años debido a la sobrevida prolongada de sujetos con neoplasias, transplantados, enfermedades consuntivas y síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

Aunque son numerosas las especies de *Candida*, la especie predominante en la candidosis es *albicans*. Esto probablemente favorecido por su carácter de comensal en diferentes tejidos; ha sido aislado de ileon en 55%, de región vulvovaginal en 40%, de orofaringe en 30%, de región anorectal en 24% y en 65% de las heces (3). Cuando existen factores que favorecen la sobrepoblación, es factible la invasión del germen, causando candidosis(4.5).

En la candidosis bucal la lengua se involucra con mayor frecuencia, seguida del paladar y la mucosa bucal (6). Entre las especies identificadas están: *C. albicans* que comprende 70%; *C. tropicalis*, 6.7%; *C. glabrata*, 6.6%; *C. parapsilosis*, 1.9%; *C. krusei*, 1.7%; *C. kefyr*, 1% y *C. guilliermondii* 0.4%. En intestino, *C.albicans* representa 51%, *C. glabrata*, 9.1%; *C. parapsilosis*, 5.4%; *C. krusei* 2.9% y *C. tropicalis* 2.3% (1).

Con respecto a la candidosis esofágica, el segmento distal es el más afectado, debido a que la levadura favorece su desarrollo en medio ácido (7).

## CARACTERÍSTICAS ESTRUCTURALES

La pared celular de *C. albicans* está conformada por glucanas, mananas, y quitina. Las dos primeras constituyen 80%; sin embargo, sólo las mananas, localizadas en la superficie, definen los dos serotipos conocidos, A y B (8).

Entre los pacientes con SIDA el serotipo B representa del 30 al 65% de las infecciones por *Candida*; en estudios efectuados en Francia, EU e Inglaterra; sin embargo en España sólo se ha identificado en 7% (9). En población sana y en inmunocomprometidos sin infección por VIH, el serotipo A de *C. albicans* es prevalente (10,11).

## PATOGENIA

La patogenia de la candidosis involucra varios factores:

1. **Adhesión y adhesinas.** La colonización tisular es preludeo esencial para la invasión; la capacidad de *C. albicans* para unirse a una variedad de superficies del hospedero, incluye células epiteliales y endoteliales, prótesis de acrílico y de teflón (12). *C. albicans* es la más adherente a células epiteliales, seguida por *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*, otras especies como *C. guilliermondii*, *C. krusei* y *C. kefir* muestran relativamente poca adhesión (13).

Las manoproteínas tienen un papel importante, ya que se unen a un receptor glucosilado mediante una molécula similar a la lectina sobre la membrana celular del hospedero.

2. **Virulencia.** Está determinada por las glucoproteínas de la pared celular; éstas funcionan como pirógeno y contribuyen a la liberación de histamina. Las glucoproteínas estimulan la inmunidad celular y humoral, liberando gran variedad de proteasas tales como hemolisinas, coagulasas, y fosfolipasas (5,14). White y cols. Identificaron mediante inmunoblot tres distintas aspartil proteinasas, (15) enzimas producidas por más del 80% de los aislados de *C. albicans* (16). Bernardis y cols. publicaron que las cepas de *C. albicans* de pacientes con SIDA fueron más patógenas que las aisladas de pacientes sin VIH (17).

3. **Cambios fenotípicos y genéticos.** *C. albicans* sufre cambios fenotípicos reversibles, los que contribuyen a la adaptación de diversas condiciones locales, a evitar la destrucción por el sistema inmune y a comportarse ya sea como comensal o como patógeno oportunista. Entre los rasgos fenotípicos se incluyen la morfología de las levaduras, el contenido de lípidos y esteroides, la adhesión al epitelio bucal, los niveles de secreción de proteasa ácida, la expresión de sus antígenos y la susceptibilidad a diferentes agentes antifúngicos (14). La inestabilidad genética de *C. albicans* favorece las probabilidades de mayor virulencia.
4. **Lesión de la mucosa.** Esta puede ser de tipo químico, como la que se produce por reflujo gástrico, o por otros patógenos como *Virus Herpes* simple y *Citomegalovirus* (9,18) que coexiste con la alteración en la función de células B y T.
5. **Susceptibilidad del hospedero.** Representa una condición de inmunocompromiso asociado a defectos en la inmunidad celular como ocurre en la diabetes mellitus, VIH, terapia prolongada con corticoesteroides y quimioterapia con citotóxicos o radiación, especialmente a mediastino, por disrupción del epitelio esofágico (19,20).

Ocasionalmente la candidosis lleva a complicaciones significativas como hemorragia o perforación esofágica(21,22). La ruptura asociada de la barrera mucosa puede también predisponer a los pacientes a infecciones fúngicas o bacterianas diseminadas (23).

Se pueden distinguir 3 fases en la patogenia de la candidosis bucoesofágica: **colonización, invasión y diseminación:**

1. El proceso de **colonización** ocurre en casos de depresión de la inmunidad celular y por la influencia de ciertos antibióticos, los cuales alteran la biota endógena.
2. La **invasión** de la mucosa esofágica por *Candida* ocurre cuando hay lesión del epitelio escamoso por agentes diversos como radiaciones, agentes quimioterapéuticos o virus. El microorganismo invade la mucosa por medio de la formación de hifas y pseudohifas.
3. La **diseminación** de las levaduras ocurre tras la invasión de los vasos sanguíneos submucosos en pacientes con granulocitopenia severa. Cuando existe depresión de la inmunidad celular con granulocitos cuantitativa y cualitativamente normales, como se observa en los pacientes con SIDA, el germen suele quedar restringido a la mucosa esofágica (19,24)

### **SUSCEPTIBILIDAD DE *CANDIDA***

En cuanto a la susceptibilidad antifúngica, *C. albicans* es un microorganismo con gran capacidad para desarrollar resistencia por al menos uno de los siguientes mecanismos:

- a) Reducción en la permeabilidad de la pared y alteración en el sitio de acción farmacológica (25).
- b) Deficiencia o sobreproducción en la cantidad de citocromo P 450 (26).
- c) Mutación de la enzima fúngica 14  $\alpha$  esterol demetilasa del lanosterol, la cual es una enzima del citocromo P 450, que resulta en la disminución de la afinidad por los azoles.

- d) Sutiles cambios en la membrana que reducen la susceptibilidad a polienos (27).
- e) Es posible también la presencia de un mecanismo errático de los azoles dentro de la levadura, dadas las diferencias entre la liposolubilidad del itraconazol y la solubilidad en agua del fluconazol (28). Se ha identificado resistencia cruzada.

### CANDIDOSIS Y SIDA

La candidosis es una de las infecciones oportunistas comúnmente observadas en pacientes con SIDA en quienes se considera enfermedad definitoria del síndrome (29). Topográficamente, la candidosis bucal se presenta en 40% a 90% de los pacientes (30), mientras que la esofágica ocurre en el 14% (31). La reducción en la producción de saliva presente en 15% de los sujetos con VIH, posiblemente facilite la colonización e infección por *C. albicans* (32). Tales eventos, suelen presentarse cuando los niveles de células CD4<sup>+</sup> son menores de 400/mm<sup>3</sup> (33). Y al parecer el biotipo asociado con las lesiones es el mismo que el de las levaduras aisladas de sujetos sanos (34).

### CANDIDOSIS BUCAL

Se han identificado los siguientes cinco tipos clínicos de candidosis bucofaringea, los cuales frecuentemente aparecen en sujetos con SIDA, y están considerados marcadores seguros de progresión de la enfermedad.

- a) **seudomembranosa**, en la que se observan placas blancas sobre el epitelio mucoso, removibles, con borde y fondo eritematoso, fácilmente sangrantes.
- b) **eritematosa** que se manifiesta por enrojecimiento de la mucosa.
- c) **queilitis angular**, caracterizada por la formación de pliegues profundos en comisuras labiales, exulceración, fisuras sangrantes y dolorosas.

- d) **hiperplásica**, en la que se encuentran placas blancas que son parcialmente removidas, por lo que deja exulceraciones en la mucosa.
- e) **lengua depapilada (atrófica)**, manifestada por parches irregulares sobre el dorso de lengua y ausencia de papilas filiformes (35,36).

## CANDIDOSIS ESOFÁGICA

De acuerdo al grado de inflamación establecido, la candidosis esofágica es sintomática o asintomática. En la sintomática, la disfagia, odinofagia y/o dolor retroesternal son datos clínicos frecuentes (37). Con relación al estudio endoscópico se pueden observar placas blancas, ulceraciones, o lesiones nodulares en la mucosa afectada (38). *C. albicans* es el microorganismo causal más frecuente, cuya prevalencia oscila entre 60 y 84% (39). Otras especies como *C. krusei*, *C. tropicalis*, y *C. parapsilosis*, han sido aisladas ocasionalmente (40).

La endoscopia gastrointestinal alta constituye el método más sencillo y de elección para el diagnóstico de esofagitis, (21,41) permite apreciar las características de la mucosa esofágica, localizar las lesiones y tomar muestras para la confirmación micológica. El estudio de la muestra obtenida por cepillado esofágico es más sensible que el de biopsia para el diagnóstico de candidosis (42).

## IDENTIFICACIÓN

Para identificar a *C. albicans*, existen diferentes métodos como la morfología colonial, patrones isoenzimáticos, serotipificación y aspectos inmunológicos, así como técnicas moleculares para conocer el genotipo de ésta levadura.



## TRATAMIENTO DE LA CANDIDOSIS BUCAL Y ESOFÁGICA

Los triazoles han sido usados en el tratamiento de la candidosis bucal y esofágica; sin embargo, se observan recaídas hasta en 50% de los casos, por ello, la continua profilaxis secundaria ha sido necesaria. Es importante señalar que las concentraciones terapéuticas de fluconazol son de 2 mcg/ml (43).

La disminución en la susceptibilidad de *Candida* a los triazoles ha sido evidente. *C. krusei* ha mostrado relativa resistencia a fluconazol *in vitro*, (44) y *C. tropicalis* la ha incrementado, además de presentar resistencia cruzada a itraconazol (45).

La asociación de fluconazol con rifampicina disminuye la concentración sérica del primero en 50% (43,46); por lo que es necesario incrementar la dosis (47). Esta asociación conduce a interacciones farmacodinámicas principalmente por dos mecanismos: 1) Inhibición de la absorción del triazol, que da lugar a menor concentración sérica y menos disponibilidad farmacológica 2) Interferencia del triazol o de otros medicamentos como en el caso de rifampicina, con la actividad de las enzimas microsomales hepáticas. (48). Otros factores que pueden influir en la falla terapéutica son los cambios en pH gástrico, el estado de hipo o aclorhidria con el que cursan los pacientes (47,49,50,51). Se tiene conocimiento de la interacción del fluconazol con otros fármacos como el difenilhidantoinato y antiácidos (49,52,53).

## MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS TRIAZOLES

El mecanismo de acción de los triazoles involucra al ergosterol, que es un componente esencial del plasmalema fúngico. Los triazoles, como el fluconazol e itraconazol, inhiben la 14 alfa demetilasa del lanosterol, dependiente del citocromo P 450, enzima que participa en la síntesis del ergosterol.

La inhibición de ésta, resulta en acumulación de 14 metil esteroides, productos que desestabilizan la membrana celular. Otros efectos de los triazoles incluyen la inhibición de la respiración endógena, la inhibición tóxica con los fosfolípidos de la membrana y la inhibición de la transformación morfogénica de levaduras a la forma micelial (54).

## RESISTENCIA ANTIMICÓTICA

Diversas publicaciones han señalado la pobre respuesta clínica a ketoconazol, itraconazol y fluconazol; además, concentraciones inhibitorias mínimas mayores de éstos antimicóticos para los aislados obtenidos post-tratamiento de las candidosis (55). La terapéutica prolongada se relaciona con resistencia de *C. albicans* a estos compuestos (43,56). En 1990 Fulton y otros autores publicaron los primeros estudios sobre resistencia a fluconazol en aislados bucofaríngeos obtenidos de pacientes con SIDA (57). A la fecha múltiples publicaciones describen resistencia para fluconazol durante el tratamiento de candidosis bucoesofágica. Clínicamente las lesiones esofágicas causadas por *Candida* persisten, aunque la sintomatología se haya resuelto (58).

Algunas publicaciones han documentado variaciones en la concentración mínima inhibitoria (CMI) de los antimicóticos (59). Una de las variables estudiadas fue la preparación del inóculo, por lo que el National Committee for Clinical Laboratory Standards Subcommittee on Antifungal Susceptibility testing of yeast, sugirió el método espectrofotométrico como el de elección para la preparación del inóculo y la realización de las pruebas de susceptibilidad antifúngica para levaduras (60).

El tiempo y temperatura de incubación ha sido considerado como otra variable importante en las pruebas de resistencia a antifúngicos. Pfaller y cols. propusieron que el tiempo óptimo de incubación sea de 24 horas (61,62,63).

La magnitud epidemiológica de SIDA en México no se conoce; sin embargo, considerando la subnotificación, se estima que son 44,254 los pacientes infectados hasta abril 1o de 1997. El registro nacional cuenta con 30,979 casos (64). La infección por virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) es una de las causas más frecuentes de atención en el Hospital de Infectología de CMNR, pues comprende 90% y 52% de los pacientes adultos egresados y externos, respectivamente. Gran parte de estos enfermos suelen cursar con candidosis bucal y/o esofágica cuya sintomatología contribuye a su deterioro nutricional, que puede ser progresivo de no administrar el tratamiento específico. Respecto a la respuesta terapéutica, es importante considerar algunas características del microorganismo, como serotipo y susceptibilidad antifúngica. Por ello, el objetivo del estudio fue determinar la frecuencia de *C. albicans* como causa de estomatitis y esofagitis en pacientes con SIDA, identificar los serotipos predominantes y diferenciar el perfil de susceptibilidad antifúngica en las infecciones señaladas.

## **MATERIAL Y METODO**

### **UNIVERSO DE TRABAJO**

Se incluyeron sujetos infectados por VIH en etapa de SIDA con evidencia clínica de candidosis bucal y/o esofágica, atendidos en la consulta externa o internados en el Hospital de Infectología de C.M.N.R.

### **CRITERIOS DE INCLUSIÓN**

1. Pacientes con diagnóstico de SIDA y datos clínicos característicos de estomatitis por *Candida*, manifestados por la presencia de placas blancas en mucosa bucal o faríngea sobre fondo eritematoso, friable, con o sin sintomatología de esofagitis como disfagia, odinofagia o dolor retroesternal.
2. Pacientes con diagnóstico de SIDA y sintomatología esofágica con sospecha de candidosis, aún sin lesiones por estomatitis.
3. Sobrevida estimada en dos meses o más
4. Aceptación del paciente para ser sometido a endoscopia gastrointestinal alta.

### **CRITERIOS DE EXCLUSIÓN**

Se descartaron los pacientes con alguna de la las siguientes patologías.

1. Insuficiencia respiratoria severa ( $PO_2 \leq 40$  mmHg).
2. Patología nasal obstructiva (tumorações en vestibulo nasal, estenosis nasales postquirúrgicas)
3. Hematemesis masiva
4. Trombocitopenia menor de 50,000 plaquetas

5. Tiempo de protrombina mayor de 5 segundos con respecto al control
6. Incapacidad para colaborar, por ejemplo demencia

## **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN**

Pérdida de cualquiera de los tres tipos de información:

1. Clínica
2. Histopatológica
3. Micológica

## **MÉTODOS MICOLÓGICOS**

### **OBTENCIÓN DEL ESPECIMEN**

#### **BUCAL**

De las lesiones sugestivas de candidosis bucal, (placas blancas, áreas hiperplásicas, eritematosas o atróficas y queilitis) se obtuvo un raspado con hisopo de algodón estéril, el que se introdujo en un tubo estéril con 3 ml de solución salina al 0.9% para luego transportarse al laboratorio.

#### **ESOFÁGICO**

Después de 12 horas de ayuno a cada paciente con diagnóstico de SIDA, y evidencia clínica de candidosis bucal con y sin sintomatología esofágica le fue realizada endoscopia gastrointestinal alta con equipo FUJINON UGI FP7; se efectuó cepillado esofágico de las zonas eritematosas; placas blancas sobre borde eritematoso; ulceraciones y lesiones nodulares, donde se efectuaron al menos 5 rotaciones con el cepillo, el material obtenido fue colocado en un tubo estéril con 3 ml de solución salina al 0.9% y transportado al laboratorio.

5. Tiempo de protrombina mayor de 5 segundos con respecto al control
6. Incapacidad para colaborar, por ejemplo demencia

## **CRITERIOS DE ELIMINACIÓN**

Pérdida de cualquiera de los tres tipos de información:

1. Clínica
2. Histopatológica
3. Micológica

## **MÉTODOS MICOLÓGICOS**

### **OBTENCIÓN DEL ESPECIMEN**

#### **BUCAL**

De las lesiones sugestivas de candidosis bucal, (placas blancas, áreas hiperplásicas, eritematosas o atróficas y queilitis) se obtuvo un raspado con hisopo de algodón estéril, el que se introdujo en un tubo estéril con 3 ml de solución salina al 0.9% para luego transportarse al laboratorio.

#### **ESOFÁGICO**

Después de 12 horas de ayuno a cada paciente con diagnóstico de SIDA, y evidencia clínica de candidosis bucal con y sin sintomatología esofágica le fue realizada endoscopia gastrointestinal alta con equipo FUJINON UGI FP7; se efectuó cepillado esofágico de las zonas eritematosas; placas blancas sobre borde eritematoso; ulceraciones y lesiones nodulares, donde se efectuaron al menos 5 rotaciones con el cepillo, el material obtenido fue colocado en un tubo estéril con 3 ml de solución salina al 0.9% y transportado al laboratorio.

## PROCESAMIENTO DEL ESPÉCIMEN

### OBSERVACIÓN DIRECTA

La muestra colocada en solución salina al 0.9% fue centrifugada a 3000 rpm durante 3 minutos, se tomó una gota del sedimento para hacer una preparación con Azul de algodón, que fue observada al microscopio de luz con el objetivo 10x, en al menos 25 campos. Se buscaron levaduras y pseudomicelio; éste se definió como la presencia de levaduras agrupadas en cadenas, de longitud variable.

### CULTIVO

La muestra tomada de boca y esófago fue transportada al laboratorio y centrifugada a 3000 rpm durante 3 minutos; diez gotas del sedimento se sembraron en medio de agar dextrosa Sabouraud sin antibiótico y otros con ciclohexamida y cloramfenicol. Se incubaron a 36°C durante 72 horas.

### IDENTIFICACIÓN

#### CARACTERIZACIÓN MORFOLÓGICA

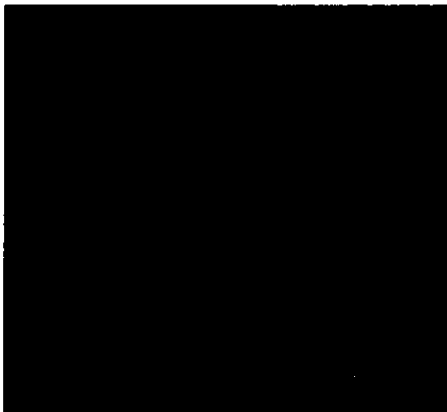
*C. albicans* se desarrolla adecuadamente en agar dextrosa Sabouraud en tiempo promedio de 48 a 72 horas, a 30°C de temperatura. Macroscópicamente presenta colonias bien limitadas, planas, cremosas, opacas, generalmente lisas, aunque algunas veces se presentan rugosas, de color blanco o blanco amarillo. Microscópicamente es caracterizada como una levadura de 3 a 6  $\mu\text{m}$ . Todas las especies de *Candida* se reproducen por blastoconidios; éstos y las levaduras se tiñen bien con PAS, Wright y con Gram, en cuyo caso se identifican como Gram positivas.

La identificación de la especie *C. albicans* se hace mediante las siguientes pruebas fisiológicas y morfológicas (65):

### FILAMENTACIÓN EN SUERO HUMANO

Se obtiene de una célula levaduriforme, la que se inocula en suero humano o de conejo, y se incuba a 37°C durante 2-3 horas; una gota de la preparación se observa a través de microscopio de luz con el objetivo 40x; en caso de *C. albicans* se observa la formación de tubo germinativo; éste tiene una longitud aproximada de 5 a 15µm. Cuando se observa más del 50% de levaduras con filamento, se clasifica la cepa como *C. albicans*.

### PROCEDIMIENTO



En un tubo estéril con 3 ml de suero humano, se agregó una asada de colonias con levaduras desarrolladas en agar dextrosa Sabouraud, y se siguió el procedimiento señalado anteriormente. **Fig. 1**

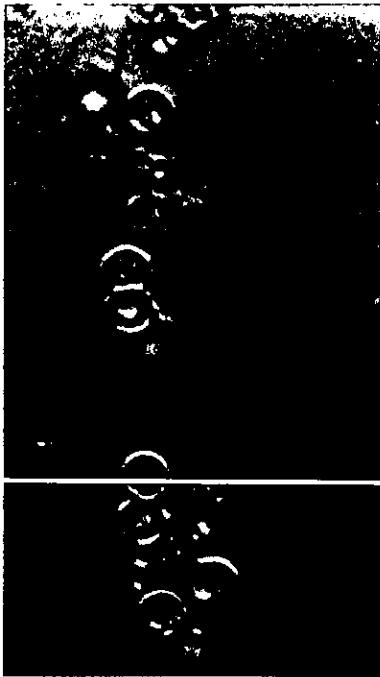
**Fig. 1** *Filamentación en Suero*

### PRODUCCIÓN DE CLAMIDOCONIDIOS

Se desarrollan al inocular medios pobres en peptonas y azúcares como el agar harina de maíz o agar papa-zanahoria. En caso específico de *C. albicans* se identifican clamidoconidios terminales o intercalares. Esta prueba es determinante para identificación de *C. albicans*, debido a las condiciones en las que se induce la producción de estas estructuras, las que se forman por engrosamiento del micelio. Algunos autores las consideran formas de reproducción, no de resistencia.



## PROCEDIMIENTO



Las colonias de levaduras obtenidas en dextrosa Sabouraud, fueron sembradas por estria en agar harina de maiz, e incubadas a 30°C durante 72 horas. Posteriormente, para hacer la observación se tomó un fragmento de la colonia sobre el que se agregó una gota de azul de algodón, fue colocado un cubreobjetos disgregando con éste el fragmento, y se observó al microscopio a 40x. Fig. 2.

Fig. 2 *Clamidoconidios* y *Blastoconidios*

## IDENTIFICACIÓN DE ESPECIE POR EL MÉTODO AUTOMATIZADO VITEK. ® bioMérieux

La tarjeta utilizada en este equipo está basada en los métodos bioquímicos de Wickerhaam & Burton (66), que se compone de 30 pocillos de los cuales 26 contienen caldos bioquímicos y 4 caldos para control negativo. Requiere de 24 horas y en algunos casos de 48 horas de incubación a 30°C. Las pruebas bioquímicas utilizadas corresponden a métodos convencionales como son: asimilación de carbohidratos, hidrólisis de urea, resistencia a cicloheximida y reducción de nitratos. Este método tiene atmósferas favorables que permiten el crecimiento de levaduras fermentadoras y no fermentadoras.

Cuando se finaliza el período de incubación, el patrón bioquímico es analizado por el programa VITEK, que determina si la reacción en cada pocillo es positiva midiendo la absorbancia de luz que se produce en cada uno de ellos.

## PROCEDIMIENTO

Con levaduras desarrolladas en agar dextrosa Sabouraud, durante 24 a 48 horas se llevó a cabo la identificación automatizada. En un tubo de ensayo estéril fue depositado 1.8 ml de solución salina al 0.45%, con un palillo aplicador se recogió del cultivo de dextrosa Sabouraud una de las colonias aisladas, para preparar un inóculo equivalente al patrón No. 2 de McFarland ( $4 \times 10^6$  UFC/ml).

En condiciones asépticas fue insertado el extremo corto de un tubo de transferencia en el orificio de entrada de la tarjeta, después fue sellada y colocada en una gradilla en posición horizontal, después de 24 horas de incubación, la gradilla se colocó en un módulo Lector/incubador para identificación.

## SEROTIPOS

### PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCIÓN DEL ANTISUERO

Conforme a la técnica de Hansenclever (8), se sembraron en caldo dextrosa Sabouraud las cepas de *C. albicans* serotipo A (IP 884.65) y serotipo B (IP 886.65), incubadas a 37°C durante 48 horas. Luego se cosechó el crecimiento en 2 ml de solución salina estéril al 0.9% de cada una de las cepas. Después se inoculó el extracto de levaduras en agar dextrosa peptona y se incubó a 37°C por 48 horas en una máquina de agitación a 130 rpm. Finalmente se agregó formalina al 0.5% y continuó la agitación durante 6 horas.

## **SUSCEPTIBILIDAD ANTIFÚNGICA**

### **GALERIAS ATB FUNGUS**

Las galerías ATB FUNGUS ® de bioMérieux permiten realizar un antifungigrama confiable y original en medio semisólido listo y rápido para usarse; determina la sensibilidad de los antifúngicos en condiciones muy próximas a la técnica de dilución en agar.

#### **DESCRIPCIÓN**

Las galerías ATB FUNGUS tienen 16 pares de cúpulas, dos de ellas no tienen antifúngico y sirven como control de crecimiento. Los otros pares de cúpulas contienen dos concentraciones de los siguientes antifúngicos; 5 fluorocitosina y anfotericina B; con sólo una concentración nistatina, econazol, miconazol y ketoconazol.

Una suspensión de la levadura problema se transfiere a un medio de cultivo y de éste se inocula en la galería. Después de 24 horas de incubación, la lectura se realiza visualmente o con el lector automático ATB.

#### **MINI API, ® bioMérieux GALERIAS DE LECTURA AUTOMÁTICA**

Cada galería posee un código serigrafiado que el lector óptico reconoce automáticamente. Las reacciones que se producen durante el período de incubación de la levadura a estudiar se traducen por aumento de la turbidez. La galería se coloca en el lector automático, éste reconoce el código de galería y efectúa a continuación las medidas, transfiriéndolas al ordenador donde el programa establecerá el perfil bioquímico correspondiente.

La nefelometría se realiza a través de doble medición de luz blanca para determinar la densidad óptica del cultivo. Para cada cúpula se realizan dos mediciones simultáneamente:

- a) Medida de luz difundida (D). Directamente proporcional al crecimiento micológico.
- b) Medida de luz transmitida (T). Inversamente proporcional al crecimiento micológico.

El cociente  $D/T$ , llamado índice de transmisión (IT) evalúa la densidad bacteriana en cada cúpula. Estas medidas son expresadas en unidades de opacidad propias del sistema.

El programa mini API permite la lectura y la interpretación de los antifungigramas automatizados en las galerías ATB FUNGUS.

#### **FUNCIONAMIENTO DEL LECTOR**

##### **Fase 1.**

- a) Detección del código de la galería,
- b) Lectura con filtro K 60,

##### **Fase 2.**

Lectura con filtro K40

##### **Fase 3.**

Lectura con filtro azul

##### **Fase 4.**

Lectura con filtro verde

## PROCEDIMIENTO

Con las cepas de *C. albicans*, sembradas previamente en agar dextrosa Sabouraud durante 24 horas, se preparó una suspensión en agua destilada estéril, comparable al patrón No. 2 de McFarland ( $4 \times 10^6$  UFC/ml) de la que se traspararon 100  $\mu$ l. a una ampolla de ATB F Medium. Después fueron inoculadas las galerías ATB FUNGUS y se incubaron a temperatura de 30°C durante 24 a 48 horas.

Después del período de incubación de las galerías ATB FUNGUS, se efectuó su lectura automática en el instrumento Mini API a través de nefelometría. El resultado obtenido permitió catalogar a las cepas en Sensibles, Intermedias o Resistentes.

## MÉTODO DE BAUER – KIRBY O DE DIFUSIÓN EN AGAR. PARA FLUCONAZOL

Los métodos de difusión en agar que utilizan discos de papel filtro seco impregnados con concentraciones específicas de agentes antimicrobianos se desarrollaron en los años 1940. Para eliminar o reducir al mínimo la variabilidad en esta prueba Bauer y colaboradores desarrollaron un procedimiento estándar en que se seleccionó el agar Mueller Hinton como el medio de prueba (67). El procedimiento adoptado por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) como norma general es útil sólo para levaduras y se actualiza periódicamente.

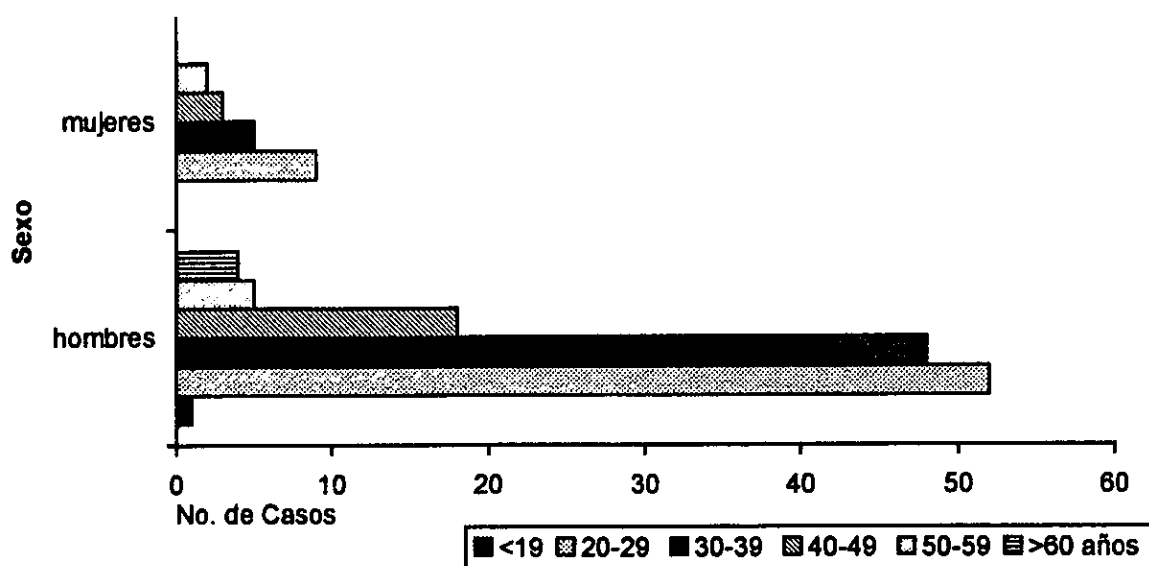
## PROCEDIMIENTO

La prueba de sensibilidad para fluconazol se realizó con sensidiscos en agar Müller Hinton. Estos discos, contienen 25  $\mu$ g de fluconazol (PFIZER), fueron colocados en la superficie de placas inoculadas con los aislados de *Candida*; se usó suspensión de levaduras ajustada al 0.5 del patrón de McFarland ( $1 \times 10^6$  UFC/ml, con turbidez del 75% y transmisión de la luz de 530

## RESULTADOS

### POBLACIÓN

Durante un periodo de 28 meses fueron seleccionados 147 pacientes de los cuales 128 (87.1%) fueron hombres y 19 mujeres (6.6:1) La edad promedio de la población fue de 34 (19-71) años, la distribución etarea se puede observar en la **Gráfica 1**.



**Gráfica 1.** Distribución por edad y sexo de 147 casos con candidosis bucoesofágica y SIDA, estudiados en Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional la Raza.

El 82% de los pacientes estuvieron bajo tratamiento con uno a seis fármacos durante dos semanas previas a su inclusión: trimetoprim-sulfametoxazol 93 (63%) sujetos, Zidovudina (AZT) 81 (55%), antituberculosos en 66 (45%), y otros fármacos. Los antimicóticos que con más frecuencia emplearon fueron itraconazol 64% y fluconazol 56%.

**Cuadro 1.**

**Cuadro 1.** Historia de fármacos en 147 pacientes con SIDA y candidosis bucoesofagica.

<b>+FÁRMACO</b>	<b>PACIENTES n=147</b>	<b>%</b>
<b>ANTIBACTERIANOS</b>		
TRIMETOPRIMSULFAMETOXASOL	93	63
<b>ANTI-RETROVIRALES</b>		
ZIDOVUDINA	81	55
ZALCITABINA	49	29
DIDANOSINA	20	14
3TC	2	1.3
<b>ANTITUBERCULOSOS</b>		
HAIN,RIFAMPICINA, PIRAZINAMIDA,ETAMBUTOL	66	45
<b>ANTIMICÓTICOS</b>		
KETOCONAZOL	60	40
ITRACONAZOL	94	64
FLUCONAZOL	82	56
ANFOTERICINA	7	5
<b>OTROS</b>		
PIRIMETAMINA,CLINDAMICINA, PENTAMIDINA, ESPIRAMICINA DFH,	89	60

A partir del diagnóstico de VIH, la media del tiempo de evolución fue de 46 meses (1 a 132 meses).

## CANDIDOSIS

La cuenta de linfocitos CD4+ en la población se encontró en el intervalo de 8 a 320 células/mm<sup>3</sup>. En el 74% (106/144) de los sujetos la cuenta fue menor de 100 células/mm<sup>3</sup>; de los que 54 (51%) fueron menores de 50 CD4+/mm<sup>3</sup>.

El antecedente de episodios sugestivos de candidosis bucal fue común; el 48% (68/143) manifestaron al menos un episodio previo y el 40% habían presentado 6 o más.

El diagnóstico de candidosis fue establecido en 147 pacientes, entre los cuales, la afección tanto de boca como de esófago se presentó en el 57%.

### Cuadro 2.

**Cuadro 2.** Topografía de la candidosis bucoesofágica en 147 pacientes con SIDA atendidos en el Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional la Raza.

Topografía	n=147	%
Bucal	38	26
Esofágica	25	17
Bucal y esofágica	84	57

### Candidosis bucal

En los casos de candidosis bucal el síntoma más común fue el dolor, referido a la mucosa de los carrillos en el 44% y a la lengua, en el 29%. Aunque estuvieron presentes los cinco tipos clínicos conocidos de candidosis bucal, una combinación de dos y tres variedades se observó en el 74%. **Cuadro 3.**



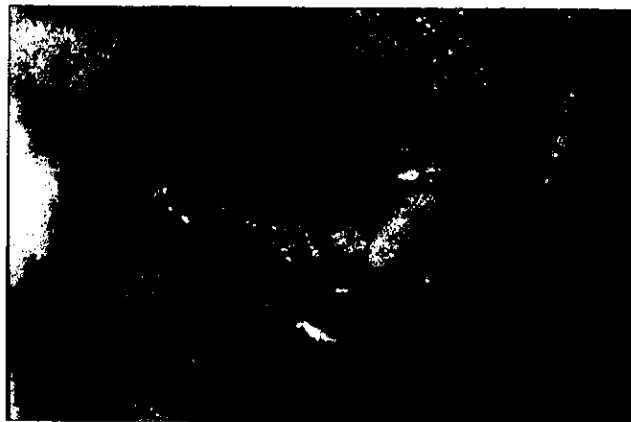
Fig. 3 Tipos Clínicos de Candidosis Bucal



**Eritematosa**



**Atrofica**



**Seudomembranosa**



**Queilitis**



**Hiperplásica**

**Cuadro 3.** Presentación del tipo clínico de candidosis bucal en 122 pacientes con SIDA

Tipo clínico	n	%
ÚNICO	31	25.4
seudomembranosa	21	68
depapilada	7	23
queilitis	1	
eritematosa	1	
hiperplásica	1	
MIXTAS	91	74.5
dos tipos clinicos	61	67
tres tipos clinicos	30	33

#### **Candidosis esofágica**

En 142 de los 147 sujetos incluidos, se realizó endoscopia gastrointestinal alta, de los cuales en 116 (82%) se estableció el diagnóstico de esofagitis por *Candida*. Los síntomas predominantes para este grupo fueron los siguientes: Disfagia en el 56%, odinofagia en 52% y dolor retroesternal en 49%; en tanto que fue común observar dos o más lesiones, entre las que predominaron el eritema y las placas blancas. **Cuadro 4.**

**Cuadro 4.** Características endoscópicas en 116 pacientes con candidosis esofágica y SIDA

Tipo de lesión	Casos	%
Eritema, erosión y placas blancas	52	45
Eritema y placas blancas	27	23
Placas blancas	18	16
Eritema	8	7
Erosion y placas blancas	7	6
Eritema y erosión	4	3

## Especies de *Candida* y otras levaduras aisladas

Se obtuvieron 231 aislados en dos grupos: El correspondiente al género *Candida* que comprendió el 97.4%, y el integrado por otros géneros como *S. cerevisiae* y *Hansenula sp* sólo representó el 2.6%. Dentro del grupo *Candida*, predominó la especie *albicans*. **Cuadro 5.**

**Cuadro 5.** Distribución por especie y sitio, de las levaduras aisladas de 147 pacientes con SIDA y sospecha clínica de candidosis.

especies	boca n	esófago n	total n	%
<i>C. albicans</i>	122	82	204	88.3
<b>No albicans</b>				
<i>C. glabrata</i>	3	7	10	4.3
<i>C. tropicalis</i>	3	1	4	1.7
<i>C. rugosa</i>	2	0	2	0.8
<i>C. parapsilosis</i>	1	1	2	0.8
<i>C. krusei</i>	0	1	1	0.4
<i>C. famata</i>	0	1	1	0.4
<i>C. zeylanoides</i>	0	1	1	0.4
<b>Otros géneros</b>				
<i>S. cerevisiae</i>	4	1	5	2.2
<i>Hansenula sp</i>	0	1	1	0.4
<b>TOTAL</b>	<b>128</b>	<b>103</b>	<b>231</b>	<b>100</b>

En dos sujetos se aisló *Saccharomyces cerevisiae* de placas blancas bucales y *Candida albicans* serotipo A de lesiones esofágicas. En otro caso *S. cerevisiae* de esófago y *C. albicans* serotipo A de boca. Dos cepas más de *S. cerevisiae* fueron aisladas de boca.

Estos pacientes cursaron con sintomatología esofágica y bucal de acuerdo al caso, a excepción de una forma bucal que no presentó síntomas, en este caso el sujeto desarrolló las variedades clínicas pseudomembranosa y eritematosa.

### Serotipos

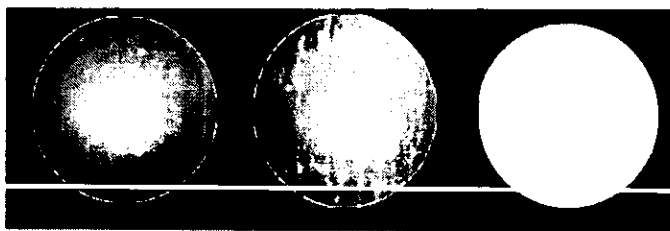


Fig. 4 Serotipo A Control A Control B

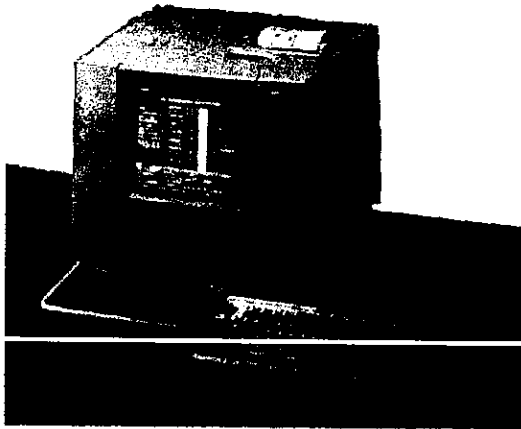
Entre 204 aislados de *C. albicans* serotificados, 136 (67%) correspondieron al serotipo B; 63 (31%), al serotipo A y 5 (2%) fueron indeterminados. En 52% (44/84) de los pacientes con candidosis bucal y esofágica se identificaron similares microorganismos para ambos sitios.

### Cuadro 6.

**Cuadro 6.** Distribución por serotipos de *C. albicans* y otras especies como agentes etiológicos en infecciones bucoesofágicas de 84 pacientes.

agente boca y esófago	Serotipo A	Serotipo B	Sero A y B	<i>C. albicans</i> y otra especie
similar				
n=44	11(13%)	33(39%)	0	0
diferente				
n=40	0	0	21 (25%)	14 (17%)

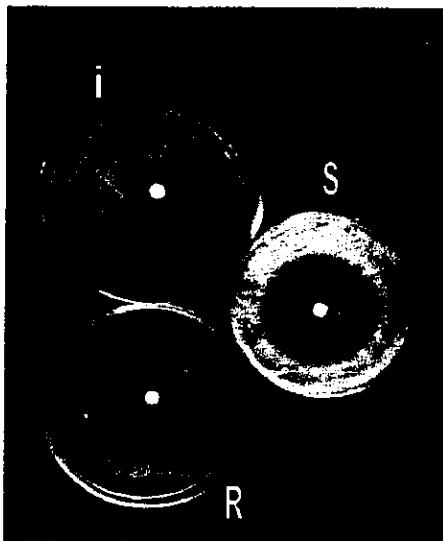
## Susceptibilidad antifúngica



Las pruebas de susceptibilidad a fluorocitosina, anfotericina B, nistatina, miconazol, econazol, ketoconazol y fluconazol se efectuaron a 231 aislados, 225 cepas de *Candida* spp y seis de otros géneros, cinco cepas de *S. cerevisiae* y una de *Hansenula* sp.

**Fig. 5 Mini Api. (Nefelometría)**

Conforme a los resultados obtenidos por los métodos de nefelometría. Fig. 5 y de Bauer Kirby Fig. 6, las cepas fueron clasificadas en tres categorías de susceptibilidad: sensible, intermedia y resistente.



**Fig. 6 Sensible, Intermedio y Resistente para fluconazol**

En general para las cepas de *Candida* spp. se observó reducción en la sensibilidad para ketoconazol (46.5%), por el contrario, la mayor sensibilidad se observó a fluconazol, anfotericina B y nistatina. También destaca la susceptibilidad intermedia con poco más del 10% de las cepas estudiadas con fluconazol. Cuadro 7 y 8.

**Cuadro 7. Susceptibilidad de 204 cepas de *C. albicans***

Antimicótico	sensibles		intermedia		resistentes	
	n	%	n	%	n	%
fluconazol	159	78	24	12	21	10
anfotericina	187	92	4	2	13	6
ketoconazol	95	47	15	7	94	46
nistatina	193	95	1	10	10	5
miconazol	114	56	82	40	8	4
econazol	84	41	43	21	77	38
fluorocitosina	171	84	13	6	20	10

**Cuadro 8. Susceptibilidad de 21 cepas de *Candida* no *albicans* aisladas de pacientes con SIDA y candidosis.**

antimicóticos	S	%	I/R	%
fluconazol	14	67	4/3	33
anfotericina	16	76	0/5	24
ketoconazol	10	48	0/11	52
nistatina	17	81	1/3	19
miconazol	10	48	8/3	52
econazol	9	43	3/9	57
fluorocitosina	20	95	0/1	5

\* Sensible S, intermedia I, Resistente R.

Siete de diez cepas de *C. glabrata* mostraron sensibilidad a fluconazol y el 30% restante manifestó sensibilidad intermedia; éste último grupo fue de origen esofágico.

De un caso con bucoesofagitis fueron aisladas *C. albicans* serotipo A y *C. krusei*, la primera de origen bucal fue sensible en forma general, la segunda resistente a fluconazol. Este paciente había presentado diez episodios previos de candidosis bucal por lo que fue tratado con itraconazol y fluconazol; contaba con 17 linfocitos CD4+ y presentó además sarcoma de Kaposi gástrico

En otro paciente se aisló *C. albicans* serotipo A de boca y *Hansenula* sp de esófago; el individuo manifestó dolor retroesternal; contaba con 250 linfocitos CD4+, recibió tratamiento con anti-retrovirales como zalcitabina y didanosina; previamente había presentado un episodio de candidosis bucal, durante el cual recibió itraconazol. El estudio de susceptibilidad *in vitro* de la cepa mencionada mostró sensibilidad intermedia para fluconazol, resistencia a ketoconazol y susceptibilidad a los otros antimicóticos del estudio. De las cinco cepas de *S. cerevisiae*, tres de ellas fueron susceptibles y dos resistentes a fluconazol.

La susceptibilidad entre sitio y serotipo A y B de *C. albicans* a los antimicóticos empleados en la clínica, fue similar; no se observó significancia estadística. **Cuadro 9.**

**Cuadro 9.** Comparación de la susceptibilidad a cuatro antifúngicos de uso clínico, entre cepas bucales y esofágicas de *C. albicans*, obtenidas de 74 pacientes con SIDA.

Droga	Boca		Esófago		"p" **
	S	R	S	R	
anfotericina B	67	8	65	8	0.58
fluconazol	61	12	61	13	0.51
ketoconazol	30	45	32	41	0.37
Nistatina	69	6	69	4	0.38

S sensible, R resistente. \*\*Prueba exacta de Fisher.

## DISCUSIÓN

Los pacientes con SIDA forman una subpoblación de inmunocomprometidos quienes presentan deterioro gradual de la respuesta inmune celular y que necesariamente reciben varios fármacos, características condicionantes de interacciones hospedero parásito peculiares. Con relación al hospedero, en este estudio se analizan las características de la candidosis bucal y/o esofágica en 147 pacientes con SIDA, la mayoría bajo prescripción de 2 a 6 fármacos y con niveles de CD4+ menores de 100 células por mm<sup>3</sup>.

La variabilidad observada en las lesiones fue relevante pues tanto en la candidosis bucal como en la esofágica la combinación de dos o más tipos clínicos fue común. Tal polimorfismo se ha relacionado con los siguientes factores: decremento en los linfocitos CD4+, disminución de IgA, menor producción de saliva y variaciones fisicoquímicas inducidas por fármacos que modifican las condiciones microambientales locales (32).

El eritema se encontró en el 56% de las lesiones mixtas bucales y en el 71% de las esofágicas. En el hospedero inmunocompetente el eritema traduce la capacidad para desarrollar una buena respuesta inflamatoria, la que se relaciona con niveles normales de linfocitos CD4+. Esta correlación no puede establecerse en la población estudiada cuyos niveles de CD4+ predominantes fueron menores de 100 células/mm<sup>3</sup>. De donde, la presencia de factores coexistentes independientes de la respuesta inmunológica parecerían también importantes.

Respecto al agente causal de las infecciones bucales y esofágicas se estudiaron las características de género, especie, serovariedad y susceptibilidad de 231 aislados.



El 88% de las levaduras identificadas correspondieron a *C. albicans*, lo que coincide con los datos publicados por investigadores interesados en las enfermedades micóticas asociadas a inmunocompromiso (10,19,40,56).

Aunque *C. no albicans* representó sólo el 9.5%, su presencia entre los pacientes con SIDA donde la ministración de antimicóticos comprendió el 64% (94/147), coincide con otras observaciones en las que el uso de antimicóticos precedió a la emergencia de dichas levaduras (69,70,71,72) no sólo como agentes únicos de la infección sino coexistentes (73,74,75).

Entre otros géneros, se identificó a *S. cerevisiae* y *Hansenula sp*, estos microorganismos, al igual que *C. albicans*, se consideran parte de la biota normal de tubo digestivo, los cuales pueden actuar como microorganismos oportunistas en sujetos inmunocomprometidos (76). Tales levaduras se confunden morfológicamente con *C. albicans*, pues presentan hifas y pseudohifas, por lo que requieren estudios de asimilación y fermentación de azúcares para su diferenciación e identificación.

Aunque *Hansenula sp* sólo se identificó en el esófago de uno de los cinco pacientes en quienes se involucraron géneros diferentes a *Candida*, su participación como patógeno potencial del tubo digestivo en SIDA cabe considerarse ya que habitualmente las infecciones por dicho germen se habían relacionado a catéteres o a enfermedad granulomatosa (77).

En cuanto a la serovariedad observada en *C. albicans*, el 67% correspondió al serotipo B y el 30% al serotipo A. Esta distribución coincide con lo publicado por Brawner y cols. (10) quienes observaron que en los pacientes inmunocomprometidos se incrementa la prevalencia de infección debido al serotipo B.

Por el contrario, otros autores como Hansenclever y Mitchell (79) identificaron el serotipo A como el más frecuente tanto en pacientes inmunocomprometidos como en portadores sanos. Gutiérrez y cols. también encontraron predominio del serotipo A (11). En ninguno de los estudios citados se hace referencia a aislados con serovariedad no A ni B, que aunque sólo fueron 5 en ésta población esperan una definición.

En lo que compete a los microorganismos, tanto en el grupo de *C. albicans* como en el de *C. no albicans* se observó reducción en la susceptibilidad a los antifúngicos de uso clínico. En *C. albicans* el 46.5, 78 y 91% fueron sensibles a ketoconazol, fluconazol y anfotericina B respectivamente, sin aparente relación con alguno de los serotipos. Con respecto a *C. no albicans* destacó la menor proporción de aislados sensibles a fluconazol (66%) y anfotericina B (76%). Para ambos grupos de *Candida* la presión ejercida por los antifúngicos es considerable puesto que 63% de los aislados procedieron de sujetos con historia de exposición a triazoles.

El efecto selectivo de los antifúngicos sobre la población de microorganismos ha sido evidente, no sólo en la reducción proporcional de los que son sensibles, sino también en la emergencia y predominio de los géneros resistentes. En ésta población se enfatiza que si bien predominó *C. albicans*, organismo todavía sensible a fluconazol y a anfotericina B, la proporción de *C. no albicans*, en quien la resistencia primaria es factible, ya representa un 9% de los aislados clínicos. Esta proporción pudiera incrementarse como ha sido publicado por otros autores (74,79,80,81).

Con relación a las posibles interacciones hospedero parásito características en éste grupo de pacientes con SIDA, cabe señalar lo siguiente: Primero, entre 84 individuos que presentaron candidosis de tipo bucal y esofágica, 12% de las levaduras identificadas fueron diferentes en especie y/o serovariedad, posiblemente relacionados a procesos infecciosos independientes

Esto pudiera ser factible a la luz de información previa que apoya la persistencia de *Candida* aún después del tratamiento (31,59), así como la reaparición de la infección no sólo como consecuencia de infección exógena sino también de reactivación (4,70,82).

Segundo, la evaluación clínica del efecto de fluconazol en candidosis bucal fue incongruente con el comportamiento *in vitro*. Ya que, en 18 de 49 fracasos terapéuticos los aislados no fueron resistentes; de ellas tres cepas correspondieron a sujetos con éxito al tratamiento.

En cualquiera de las dos situaciones las condiciones entre hospedero y parásito pudieran ser influenciadas por la interacción farmacológica, cambios en el microambiente, deterioro del sistema inmunológico y/o exposición prolongada del agente a los antifúngicos; fármacos cuyo potencial para inducir resistencia ya es conocido (83,84,85,86). Así mismo la posibilidad de adquirir gérmenes exógenos resistentes existe.

Para concluir se puede considerar que en los pacientes con candidosis y SIDA, el uso racional de los antifúngicos implica lo siguiente: a) Conocer el comportamiento epidemiológico de la susceptibilidad que los microorganismos presentan para los antimicóticos. B) Lograr la concentración terapéutica del antifúngico ministrado, debido a las diversas causas condicionantes de niveles subterapéuticos en pacientes con SIDA.

Tales acciones sin duda serán reforzadas en la medida que se exploren los factores implicados en la interacción, ya por parte del hospedero como del agente, por lo que no sólo los estudios de patogenicidad, sino también los mecanismos de sensibilidad disminuida o resistencia prevalentes, son considerados como perspectiva en las infecciones bucales o esofágicas de los pacientes con SIDA.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. KWONG CHUNG KJ, BENNETTI JE, Medical Micology. 1ª. Edición, Philadelphia. Lea & Febiger. 1992: 280-336.
2. HERRERA T, ULLOA M. El reino de los hongos. Micología básica y aplicada. 1ª. Edición. México, Ed. Fondo de Cultura Económica y UNAM. 1990
3. COHEN R, ROTH F, DELGADO E, AHERND D, KALSERM. Fungal flora of the normal human small and large intestine N Engl J Med 1969 280:638-641.
4. WALSH T, PIZZO P. Nosocomial fungae infections. Annu Rev Microbial, 1988;42:517-545.
5. ODDS FC. Candida and Candidosis. 1ª. Edición Baltimore. University Park Press. 1979:116
6. ARDENDORF TM, WALKER DM. The prevalence and intrabucal distribution of *C. albicans* in man. Arch. Oral Biol, 1980; 25:1-10
7. WALSH T, HAMILTON S, BELITSON N. Esophageal Candidosis, Managing and increasingly prevalent infection. Postgrad Med 1988;84:193-205.
8. HANSENCLEVER HF, MITCHEL WO. Antigenic studies of *Candida* I Observation of two antigenic groups in *C. albicans*. J Bacteriol. 1961; 82: 570-573
9. ODDS F, SCHMID J, SOLL D, Mycosis in AIDS. New York, Ed. Plenum press.1990:67-74.
10. BRAWNER D, CUTLER J. Bucal *C. albicans* isolated from nonhospitalized normal carriers, immunocompetent, hospitalized patients and immunocompromised patients with or without AIDS J Clin Microbiol 1988;27:1335.
11. GUTIERREZ GT, VALDEZ SH, ENCISO MA, SOLORZANO SF, DÍAS PH, Caracterización de cepas de *C. albicans* por serotipificación, pruebas de sensibilidad y RAPD-PCR. 1997; Mem. V Jornadas Médicas Internacionales CMN La Raza, Hospital de Infectología IMSS.
12. ROTROSEN D, CALDERONE RA. Adherence of *Candida* species to host tissues and plastic surfaces. Rev Infect Dis 1986;8:73-85.
13. KING RD, LEE JC. Adherence of *C. albicans* and other *Candida* species to mucosal epithelial cells. Infect Immun 1980;27:667-674
14. MATTHEWS R C. Pathogenicity determinants of *C. albicans*: potential targets for immunotherapy. Microbiology 1994;140:1505-1511.
15. WHITE T, SHELLEY H, MIYASAKI, AGABIAN N. Three Distinct Secreted Aspartyl Proteinases in *Candida albicans*. J.Bacteriol 1993;175:6126-6133.
16. CHAKRABARTI A, , NAYAK N, TALWAR P. *In vitro* proteinase production by *Candida* species. Mycopathologia. 1991;114:163-168.
17. BERNARDIS F, CHIANI P, CICOZZI M, PELLEGRINI G. Elevated Aspartic Preteinase Secretion and Experimental Pathogenicity of *Candida albicans* Isolates from Oral Cavities of Subjets Infected with Human Immunodeficiency Virus. Infect Immun. 1996;64: 466-471.
18. CONNOLLY G, HAWKINS D, HARCOURT WEBSTER J, PARSONS P, HUSAIN O, GAZZARD B. Oesophageal syntoms, their causes, treatment and prognosis in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. GUT 1989;30:1033-1039.
19. RIESTRA S, SUAREZ A., HALABI H, RODRIGO L, Esofagitis por *Candida* Rev Esp Enf Ap Digest 1989;76:188-193.
20. Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). MMWR, United States 1982;31:507-514.
21. MATHIESON R, DUTTAS. *Candida* Esophagitis. Dig Dis and Sci 1983;28:365-370

44. PERSONS DA, LAUGHLIN M, TANNER. Fluconazole and *Candida krusei* fungemia. Engl J Med 1991; 325:315-317
45. LAW D, MOORE CB, JOSEPH LA, KEANEY MGL, DENNING DW. High incidence of antifungal drug resistance in *C. tropicalis*. Int. J Antimicrob Agents 1996;7:241-245.
46. AYALA GJ, BRIONES LE, LÓPEZ CA. Los azoles en tratamiento de las micosis profundas y sistémicas. Rev Med IMSS. 1995;33:509-515
47. BACIEWICZ AM, BACIEWICZ FA. Ketoconazole and Fluconazole Drug Interactions. Arch. Intern Med. 1993;153:1970-1976.
48. BENNET JE. 1990. Antimicrobial agents: antifungal agents, p 1165-1181 In AG. Gilman, TW. Rall, AS. Nies, and P. Taylor (ed) Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics, 8 th. Ed. Pergamon Press. Inc. Elmoford, N.Y.
49. DREW RH, PERFECT JR, GALLIS HA. Use of fluconazole in a patient with documented malabsorption of ketoconazole. Clin Pharm. 1988; 7:622-623.
50. LAZAR JD, WILNER KD. Drug interactions with fluconazole. Rev Infect Dis. 1990;12 (supl 3):S327-333.
51. THORPE JF, BAKER N. Effect of oral antacid administration on the pharmacokinetics of oral fluconazole. Antimicrob Agents Chemother. 1990;34:2032-2033.
52. BLUM RA, D'ANDREA DT, FLORENTINO BM, et al. Increased gastric pH and the bioavailability of fluconazole and ketoconazole. Ann Intern Med. 1991;114:755-75.
53. MITCHEL AS, HOLLAND JT. Fluconazole and phenytoin: a predictable interaction. BMJ 1989;298:1315.
54. VAN DEN BOSSCHE H, WILLMSSENS G, COOLS W, Hypothesis on the molecular basis of the antifungal activity of N-substituted imidazoles and triazoles. Biochem Soc Trans 1983;11:665-667
55. CAMERON M, SCHELL W, BRUCH S, BARTLETT J, WASKIN H, PERFECT J. Correlation of *in vitro* Fluconazole resistance of *Candida* Isolates in Relation to Terapy and Symptoms of Individuals Seropositive for human immunodeficiency virus type Y. Antimicrobial Agents and Chemoterapy 1993;37:2449-2453.
56. BAILY GG, PERRY F M, DENNING D W, Fluconazole resistant candidosis in an HIV cohort. AIDS 1994;8:787-792
57. FULTON P, PHILLIPS P. Fluconazole resistance during suppressive therapy of AIDS related thrush and esophagitis caused by *C. albicans*. international Conference on AIDS, 1990; 6:239 (abstr Th B 468).
58. TAVITIAN A. RAUFMAN J. Ketoconazol Resistant *Candida* Esophagitis y in Patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome. Gastroenterology 1986; 90: 443-445
59. GALGIANI JN, REISER C, ESPINEL-INGROFF MA. Comparison of relative susceptibilities of *Candida* species to three anifungal agents as determined by unstandardized methods. Antimicrob Agents Chemoter. 1987;31:1343-1347
60. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS: US NCCLD Antifungal Susceptibility Subcommittee Meeting on Interpretive breakpoints, June 1996.
61. PFALLER, MA, RINALDI MG, GALGIANI JN. Collaborative Investigation of Variables in susceptibility Testing of Yeast. Antimicrob. Agents Chemother. 1990;34:1648-1654.
62. COOK RA, McINTYRE KA. AND GALGIANI JM. Effects of incubation temperature, inoculum size, and medium on agreement of macro and microdilution broth susceptbility test results for yeasts. Antimicrob. Agents Chemother. 1990;34:1542-1545.
63. DOERN GV, TUBERT TA, CHAPIN K, AND RINALDI MG. Effect of medium composition on results of macrobroth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. J Clin Microbiol. 1986;24:507-511.
64. CONSEJO NACIONAL DE PREVENCIÓN Y CONTROL DEL SIDA Boletín Mensual de SIDA, Enfermedades Infecciosas y Microbiología (México) 17(3);1:2576-2593 Enero 1997;17(3):100-111

65. LÓPEZ MARTÍNEZ R, MÉNDEZ T LJ, Hernández HF, Castañón OL. Micología Médica. Procedimientos para el diagnóstico de laboratorio. 1ª. Edición. México, Ed. Trillas. 1995:139
66. WICKERHAN LJ, and BURTON K.A. Carbohydrate assimilation test for the classification of yeast. J Bacteriol. 1948; 56:363-371.
67. BAUER AW, KIRBY VMM, SHERRIS JC, AND TURCK M Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am J Clin Pathol. 1966;45:493-496
68. PFALLER MA, BALE M, BUSCHEIMAN B, LANCASTER M, Quality control guidelines for National Committee for Clinical Laboratory Standards recommended broth macrodilution testing of amphotericin B, fluconazole and flucitosyne. J Clin Microbiol.1995;33:1104-1107
69. LEEN CLS, DUNBAR EM, ELLIS ME, MANDAL BK. Once weekly fluconazole to prevent recurrence of oropharyngeal candidiasis in patients with AIDS related complex: a double blind placebo controlled study. J. Infection 1990;21:55-60.
70. RUHNKE M, A. EIGLER E. ENGELMANN B. GEISELER AN M, TRAUTMANN. Correlation between antifungal susceptibility testing of *Candida* isolates from patients with HIV infection and clinical results after treatment with fluconazole . Infection 1994;22:132-136.
71. BARCHIESI F, GIACOMETTI A, ARZENI P, BRANCHESI G, CRESCENZI F, ANCARANI, AND SCALISE G. Fluconazole and ketoconazole in the treatment of oral and esophageal candidiasis in AIDS patients. J Chemother. 1992;4:381-386.
72. BOKEN D J. SWINDELLS S, AND RINALDI MG. Fluconazole resistant *C. albicans*. Clin Infect Dis. 1993; 17:1018-1021.
73. NEWMAN SL, FLANIGAN TP, FISHER A, RINALDI MG, STEIN M, VIGILANTE K. Clinically significant mucosal candidiasis resistant to fluconazole treatment in patients with AIDS Clin Infect Dis. 1994; 19:684-686.
74. WINGARD JR, MERZ WG, RINALDI MG, JOHNSON TR, KARP JE, SARAL R: Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. N. England J Medicine. 1991;325:1274-1277.
75. REDDING SW. PFALLER MA, MESSER JA, SMITH PROWS J, BRADLEY L, FOTHERGILL AW RINALDI MG. Variations in Fluconazole susceptibility and DNA Subtyping of Multiple *Candida albicans* Colonies from Patients with AIDS and oral candidiasis suffering One or More Episodes of infection. J Clin Microbiol. 1997;35:1761-1765.
76. DRONDA F, ALONSO-SANZ M, LAGUNA F, CHAVES F, MARTÍNEZ-SUAREZ J, RODRÍGUEZ-TUDELA J, GONZALEZ-LOPEZ A, VALENCIA E. Mixed oropharyngeal Candidiasis due to *Candida albicans* and Non-*albicans Candida* strains in HIV-Infected Patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1996;15:446-452.
77. KLEIN A. S, TORTORA GT, MALAWITS R, AND GREENE WH. *Hansenula anomala*: a new fungal pathogen. Arch Intern Med. 1988; 148:1210-1213.
78. HANSENCLEVER HF, MICHEL WO. Antigenic studies of *Candida*. II Antigenic relation of *C. albicans* Group A and Group B to *Candida stellatoidea* and *Candida tropicalis*. J. Bacteriol 1961;82:574-577
79. VELEGRAKI A, PAPALAMBROU D, SOREMI LEGAKIS NJ. Variable antifungal Susceptibility of Wild Type *Candida albicans* Phenotypes from Neutropenic Host. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996;15:854-860.
80. JOHNSON E.M, WARNOCK DW, LUCKER J, PARKER SR, SCULLY C. Emergence of drug resistance in *Candida* species from HIV infected patients receiving prolonged fluconazole therapy for oral candidosis. J Antimicrob Chemother 1995; 35: 104-114.
81. PRICE MF, LAROCCO MT, GENTRY LO: Fluconazole susceptibility of *Candida* species and distribution of species recovered from blood cultures over a 5 year period. Antimic. Agents and Chemother 1994;38:1422-1424.
82. CHAVANET P, LOPEZ J, GRAPPIN M. et al. Cross sectional study of the susceptibility of *Candida* isolates to antifungal drugs and *in vitro* in vivo correlation in HIV infected patients. AIDS 1994; 8:945-950.

83. MAENZA JR, KERULY JC, MOORE RD, CHAISSON RE, MERZ MG, GALLANT JE. Risk Factors for Fluconazole-resistant Candidiasis in Human Immunodeficiency Virus-infected Patients. J Infect Dis. 1996;173:219-225.
84. BAILY GG, PERRY FM, DENNING DW, AND MANDAL BK. Fluconazole - resistant candidosis in an HIV cohort. AIDS, 1994;8: 787-792.
85. SELIK RM, STARCHER ET, CURRAN JW. Opportunistic diseases reported in AIDS patients: frequencies, associations, trends. AIDS 1988; 1: 75-182.
86. VUFFRAY A, DURUSELL C, BOERLIN C, BOERLLIN PETZOLD F, BILLE J, GALUSER MP, CHAVEZ JP. Oropharyngeal candidiasis resistant to single dose therapy with fluconazole in HIV infected patients. AIDS 1994;8:708-709