

76



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

ESTUDIO *in vitro* DE LA PRODUCCION DE PROTEINASAS EN CEPAS DE *Candida sp* AISLADAS DE PACIENTES CON CANDIDOSIS ORAL.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

JOSEFINA LOPEZ RUIZ



MEXICO, D. F.



EXAMENES DE QUIMICA
FACULTAD DE QUIMICA

2001

294430



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

JURADO ASIGNADO:

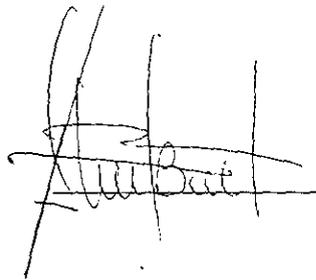
PRESIDENTE . Prof. ABEL GUTIERREZ RAMOS
VOCAL · Prof. JOSE ALEXANDRO BONIFAZ TRUJILLO
SECRETARIO Prof. MISAEL GONZÁLEZ IBARRA
1er SUPLENTE· Prof. MARCO ANTONIO BECERRIL FLORES
2º SUPLENTE Prof. LUCIANO HERNÁNDEZ GÓMEZ

Sitio donde se desarrolló el tema

Departamento de Micología. Hospital General de México SS

Nombre Completo y Firma del Asesor del Tema

JOSE ALEXANDRO BONIFAZ TRUJILLO

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Jose Bonifaz', written over a horizontal line.

Nombre Completo y Firma del Supervisor Técnico

JAVIER ARAIZA SANTIBÁÑEZ

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Javier Araiza', written over a horizontal line.

Nombre Completo y Firma del Sustentante

JOSEFINA LÓPEZ RUIZ

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Josefina Lopez', written over a horizontal line.

INDICE

INTRODUCCIÓN	2
ANTECEDENTES	
Generalidades	4
Definición	4
Historia	4
Barreras del Hospedero	6
FACTORES PREDISPONENTES	8
PATOGENIA	10
Adherencia	10
Formación de pseudohifas	14
Producción de toxinas	15
Secreción de enzimas hidrolíticas	15
VARIEDADES CLÍNICAS	20
Candidosis mucocutánea	20
Candidosis cutánea	23
Candidosis sistémica o profunda	24
DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO	28
MICOLOGÍA	30
TRATAMIENTO	32
OBJETIVO	37
HIPÓTESIS	38
METODOLOGÍA	39

RESULTADOS	41
DISCUSIÓN	51
CONCLUSIONES	55
BIBLIOGRAFÍA	56

*Muchas personas entrarán y saldrán de tu vida, pero sólo los verdaderos amigos dejarán huellas en
tu corazón*

Para manejarte a ti mismo, usa la cabeza, para manejar a los demás, usa tu corazón.

El enojo es sólo una carta de peligro

Si alguien te traiciona una vez, es su falta; si te traiciona dos veces, es tu falta.

*Las grandes mentes discuten las ideas; las mentes promedio discuten los eventos, las mentes
pequeñas discuten a las personas.*

*El que pierde dinero, pierde mucho; el que pierde a un amigo, pierde mucho más, el que pierde la fe,
lo pierde todo.*

*Las personas jóvenes bonitas son accidentes de naturaleza, pero las personas viejas bonitas son unas
obras de arte.*

Aprende de los errores de otros, ya que no vivirás lo suficiente para aprender todo de ti mismo.

No hay ni principio ni fin ..

El ayer es historia.

El mañana es un misterio.

Hoy es un regalo.

Anónimo.

Agradezco infinitamente a dos personas especiales, mis padres; que me dieron no sólo la vida, sino también apoyo, comprensión, confianza y amor para seguir siempre adelante, estando a mi lado en cada momento logrando así uno de mis más grandes sueños.

Gracias por su gran esfuerzo, desvelos y preocupaciones, por compartir conmigo su gran sabiduría y amistad. Gracias por sus consejos que me han servido para poder salir adelante, gracias por todo.

A mis hermanos Erika, Miriam, Evelyn y Héctor; también a mi tío José por todos esos momentos especiales que hemos compartido.

Con todo el corazón a mi querido profesorcito Alejandro Benifaz, por ser mi maestro y guía, gracias por todas sus enseñanzas y consejos, pero sobre todo por su cariño y amistad

A Lavito por ser más que un profesor y compañero un amigo.

A Ernes por tu ayuda, consejos y amistad.

A Lisbeth por tu contagiante locura y alegría que hace que cada día sea más especial; por tus regaños y consejos.

Al departamento de Dermatología, Hematología e Infectología, así como al Hospital General de México, por abrirme sus puertas; a todos aquellos que contribuyeron a que este trabajo se realizara.

A mis grandes amigos Octavio y Leticia, por estar a mi lado en todo momento, sobretodo cuando más los necesitaba.

A todos mis compañeros de la Facultad de Química, por todos esos momentos especiales, tanto agradables como los no tanto, por formar parte de mi vida y formación académica.

A mi Universidad y en especial a la Facultad de Química por su formación y permitirme ser parte de ella.

A la VGDH y al AMOB, por todo aquello que me brinda cada día.

INTRODUCCIÓN

La candidosis es una de las micosis oportunista cosmopolita más frecuente, su principal agente etiológico es *Candida albicans*, en los últimos tiempos se ha documentado un gran incremento de candidosis oral; esto puede deberse a la prolongada administración de antibióticos y a la alta incidencia de pacientes inmunocomprometidos.⁽¹⁴⁾

Candida albicans y otras especies son parte de la flora habitual de las mucosas, las infecciones que causa son de origen endógeno, y las razones por las cuales causa infección es debido a diferentes factores predisponentes siendo uno de los principales la inmunosupresión, además *Candida albicans* presenta diferentes factores de virulencia que son los responsables de su patogénesis, dentro de los principales tenemos: La capacidad para adherirse a las células epiteliales, la producción y secreción de enzimas hidrolíticas, la producción de toxinas y la habilidad para producir estructuras parasitaria (pseudofilamentos y filamentos).

La adherencia es un mecanismo de virulencia que ha cobrado gran interés, y es debido a que es el primer paso en la colonización de las mucosas y el establecimiento de la enfermedad.^(11,15,18) La producción de pseudofilamentos se encuentra muy ligada a la adherencia, debido a que al presentar un mayor tamaño, tendrá una mayor área de contacto.⁽⁴⁾

Recientemente se ha estudiado una proteinasa que es una enzima ácida extracelular producida por *Candida sp*, su acción se encuentra en un rango de pH ácido (3-5.5) este ambiente es encontrado en cavidad oral, por lo que se favorece la expresión de esta enzima.
(26.28-30.33.36.38-39)

Las cepas de *Candida albicans* productoras de proteinasa causan una infección más extensa que las cepas deficientes de ésta; la producción elevada de esta enzima es un

aspecto muy relevante de la adaptación de *Candida albicans* a los tejidos del hospedero y la virulencia de la cepa, la presencia de cepas productoras de proteinasas, puede agravar teóricamente la condición de pacientes inmunocomprometidos; se ha encontrado que las cepas aisladas de pacientes VIH(+) con problemas de candidosis, producen niveles elevados de proteinasas, por lo que estas cepas son más virulentas que las aisladas de portadores sanos^(25,34,38) En los pacientes que presentan un cáncer hematológico (leucemia), se presentan cuadros repetidos de candidosis oral por la quimioterapia recibida, este tipo de pacientes presenta una depresión en el sistema inmune por lo que, se presentará el mismo caso que en los pacientes infectados por VIH.⁽⁶⁶⁾

La expresión de la proteinasa ha tomado gran importancia, debido a que se ha aislado de lesiones *in vivo*, además de que por su estructura es un antígeno muy potente, de manera que las personas que presentan candidosis tendrán anticuerpos contra esta proteinasa, esta razón es importante ya que se podría realizar un serodiagnóstico, siendo muy útil en el caso de candidosis hematógenas, ya que suelen confundirse con sepsis bacterianas.^(14,33,34,37)

El propósito de este estudio es comprobar la producción de proteinasas en cepas de *Candida sp* aisladas de pacientes con candidosis oral, teniendo como referencia a cepas de *Candida sp* aisladas de voluntarios sanos que no presentan candidosis oral, permitiendo comprobar si las cepas aisladas de los casos con candidosis oral poseen la capacidad de producir proteinasas, siendo este mecanismo de virulencia un factor importante de considerar.

ANTECEDENTES

GENERALIDADES

Las levaduras son microorganismos oportunistas del hombre y animales, que se encuentran distribuidos en diferentes áreas como el aire, polvo, el suelo, superficie corporal, boca, intestino y vagina; existen diferentes géneros difiniendo por sus propiedades morfológicas y fisiológicas. Dentro de las diferentes levaduras oportunistas existentes el género que es de mayor importancia es *Candida*, siendo el agente causal de candidosis en una gran gama de pacientes. ^(4,7)

La candidosis es una de las micosis oportunista cosmopolita más frecuente; sus manifestaciones clínicas son localizadas, diseminadas o sistémicas; es una infección aguda o crónica que afecta primordialmente las mucosas, piel, uñas y excepcionalmente tejidos profundos, es causada por diversas especies de levaduras del género *Candida* siendo la más frecuentemente aislada *Candida albicans* ⁽¹⁻⁵⁾

Esta micosis es conocida desde la época de Hipócrates quien en su obra "Epidemics" describió placas blanquecinas en niños recién nacidos (RN) y pacientes debilitados a lo que denominó estomatitis aftosa.

En 1844 Bennett reconoció la naturaleza dimórfica *Candida sp*; su capacidad que tiene ésta para producir pseudofilamentos.

1853 Robin aisló al hongo y propuso que se trataba de una enfermedad en pacientes debilitados, nombró a la levadura *Oidium albicans* y 70 años mas tarde Berkhout transfirió la especie al género *Candida* ^(1,2,4)

1932 en los trabajos de Langeron y Talice quedó clasificada como *Candida albicans*.

En la actualidad la incidencia se ha elevado por lo que su estudio también se ha

incrementado, esto se debe a las diversas enfermedades y al esfuerzo que se hace por prolongar la vida con tratamientos que muchas veces comprometen a la inmunidad del paciente, como son todos aquellos que se utilizan en las enfermedades neoplásicas.

Candida albicans es una levadura asexuada cuyo estado anamorfo pertenece a la subdivisión *Deuteromycota*^(1,2), diversas especies de *Candida* se encuentran ordinariamente como comensal inocuo del tracto digestivo y vaginal, constituyendo una parte de la flora microbiana normal del hospedero, que en condiciones normales no genera enfermedad al hombre y animales, pero es capaz de invadir y dañar los tejidos cuando las defensas del huésped están localmente o sistémicamente dañadas^(1,6-8).

Se pueden encontrar en el tracto gastrointestinal, habitando boca, laringe y faringe, coloniza intestino delgado y grueso siendo común encontrarla en materia fecal y área perianal. La flora intestinal de *Candida* y otras levaduras se incrementa con dietas ricas en carbohidratos, sobre todo a partir de frutas.

No es frecuente aislar *Candida* de piel sana, su cantidad se incrementa cuando la piel se encuentra enferma, sobre todo por dermatosis (dermatitis por contacto o área del pañal); la flora de *Candida* se incrementa en personas diabéticas, aumentando la población de ésta en piel sobre todo en áreas húmedas y en los diferentes pliegues (submamario, ingle, etc.). No forma parte de la flora normal de uñas por lo que su aislamiento en éstas indica candidosis.

BARRERAS DEL HOSPEDERO.

Hay resistencia natural a la infección que depende de diferentes factores como potenciales de óxido-reducción, competencia por los nutrientes, etc.

Se han observado diferentes mecanismos por medio de los cuales el organismo contrarresta las infecciones, siendo las principales barreras físicas generales y mecánicas. barreras químicas. microbiológicos e inmunológicos.

❖ Las principales barreras físicas generales que se encuentran son:

- La integridad de los diferentes tejidos principalmente la piel, debido a que es el órgano más extenso del cuerpo y la principal barrera contra los microorganismos patógenos y oportunistas.
- La integridad de las mucosas, vellos y cilios.
- La descamación de la piel, el cual es un proceso continuo.

❖ Las barreras físicas mecánicas son:

- La tos.
- El estornudo.
- El vómito.
- El movimiento de los cilios del tracto respiratorio, el cual con la acumulación del moco eliminará a los agentes causales.

❖ Dentro de las barreras químicas que se encuentran son:

- Secreciones orgánicas como el sudor (alta concentración de sales), lágrimas, cerilla, sebo y moco.
- Saliva la cual presenta un pH ligeramente ácido, enzimas hidrolíticas y lisozimas.
- Jugo gástrico, principalmente por su alta concentración de iones hidronio produciendo un pH ácido y las diferentes enzimas (peptidasas, ¿??????).

➤ Bilis, contiene una gran diversidad de enzimas hidrolíticas además de poseer un pH básico, causando un cambio severo en el producto que proviene del estómago destruyendo o inhibiendo el desarrollo de los microorganismos.

❖ Los mecanismos microbiológicos:

➤ La integridad de la flora microbiana, el desarrollo de alguno de éstos como patógeno será sólo si hay algún desequilibrio en este microambiente.

➤ La competencia que existe dentro del microambiente por los nutrientes.

❖ El mecanismo inmunológico:

➤ Otro mecanismo de defensa es el sistema inmune principalmente la inmunidad celular, ya que una disminución cuantitativa de los linfocitos TH (CD_4) generalmente menos de 100 cel/ml; deficiencia en la fagocitosis y/o depresión en la biofuncionalidad de los linfocitos TH, así mismo una disminución en la producción de IL-2 e INF- γ favorece a infecciones recurrentes por hongos oportunistas.

➤ Lo mismo ocurre cuando la inmunidad humoral está disminuida o ausente, un ejemplo de ello es los individuos que presentan niveles bajos de anticuerpos de la clase SigA o disminución de anticuerpos IgG, pueden presentar infecciones recurrentes tanto por bacterias como por hongos oportunistas.

FACTORES PREDISPONENTES

La candidosis es una enfermedad endógena, por lo que cualquier factor predisponente del hospedero y la alteración de alguna de las barreras antes mencionadas favorecerá la enfermedad.

Debido a que *Candida albicans* y otras especies son parte de la flora habitual de las mucosas, las razones por las cuales causa infección es debido a diferentes factores predisponentes como son.

a).-Cambios fisiológicos:

Cambios de pH sobre todo en vagina y boca.

En el embarazo existe un desequilibrio en la flora bacteriana, incremento de glucógeno, cambio de pH y disminución de la respuesta inmune produciendo un aumento en la población de *Candida*

Durante el periodo neonatal la condición predisponente es probablemente la inmadurez del sistema inmune y está poco colonizada.

b).-Enfermedades o procesos debilitantes:

El término debilidad comprende una gran variedad de trastornos en los cuales la infección por *Candida* se ve favorecida por diversos factores, por ejemplo.

Avitaminosis siendo más frecuente en ancianos, tuberculosis, absceso hepático amibiano, desnutrición y neoplasias.

Desórdenes endócrinos como diabetes mellitus.

c).-Inmunodeficiencias primarias o secundarias.

Algún defecto en la inmunidad, defectos relacionados con la función leucocitaria normal y con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).

Leucemia, linfoma de Hodgkin.

deficiencias genéticas como agamaglobulinemia y síndrome de Di George.

d).-Iatrogénicos.

La administración de agentes inmunosupresores, citotoxinas y otros fármacos que

disminuyen las defensas del hospedero, lo predisponen a diversas infecciones.

Tratamiento prolongado con antibióticos, corticoesteroides.

Tratamientos anticonceptivos orales y dispositivos intrauterinos, cateterismo y procesos

quirúrgicos

e).-Miscelánea.

Rotura accidental de la barrera cutánea, tales como traumatismos o quemaduras.

Dermatosis inflamatorias previas, traumatismos ungueales, mal estado de la

piel, quemadura, prótesis mal adaptadas y humedad.

Personas drogadictas y pacientes que tengan catéteres.

El fumar tabaco es otro factor de predisposición para la colonización de las

quemaduras, debido a que este inhibe el movimiento coordinado de los cilios, favoreciendo

así la colonización de los diferentes microorganismos⁽¹⁻⁶⁾.

La gravedad de la infección depende sobre todo de las alteraciones primarias del hospedero

más que de las propiedades patógenas del hongo⁽²⁾.

PATOGENIA

La candidosis es una clásica enfermedad oportunista, que requiere forzosamente de factores predisponentes, la mayoría de veces se origina de manera endógena, casi siempre atribuible a dos procesos.

1.- Por el desequilibrio de la flora microbiana que hace, que se incremente la presencia de levaduras como *Candida* (cambios de pH, acúmulos de nutrientes como el glucógeno o por disminución de la flora bacteriana por antibióticos).

2.-Por enfermedades o procesos que influyan en la respuesta inmune sobre todo a nivel celular.

Los casos exógenos siempre se inician por el ingreso al organismo de grandes cantidades de levaduras, como por ejemplo en las personas que usan drogas inyectables (heroína), o con catéteres, ya que los microorganismos son inoculados directamente al torrente circulatorio.

La patogenicidad de *Candida spp* se debe a diversos mecanismos de virulencia que posee como son:

1. Habilidad de adherirse a las células.
2. Producción de pseudohifas.
3. Producción de toxinas.
4. Secreción de enzimas hidrolíticas.

1. Adherencia

Últimamente se ha reconocido la importancia de la adherencia de los microorganismos en la patogénesis de muchas infecciones microbianas, el interés actual es sobre el estudio de la adhesión a la mucosa por las levaduras oportunistas⁽¹⁶⁾

La adherencia de *C. albicans* a las células epiteliales es una propiedad de especies virulentas de *Candida*, y es un paso inicial muy importante en la colonización de las mucosas y el establecimiento de la enfermedad, siendo considerado como un mecanismo de virulencia^(11,15,18).

Existen varios factores que pueden afectar la adhesión entre las levaduras y las células del epitelio, pueden ser características propias de las levaduras (incluyen la concentración, fase de crecimiento, medio de desarrollo y la cepa), factores del epitelio, factores ambientales (temperatura, concentración de iones hidronio) y anticuerpos⁽⁶⁾ La concentración de azúcares influye en la adhesión de *Candida* a la mucosa, cuando existe una alta concentración de éstos, la adherencia de *Candida* se ve incrementada, esto es importante porque en las personas diabéticas se observará una alta concentración de glucógeno que será convertido a glucosa por las enzimas del tejido o de la microflora, favoreciendo así las infecciones causadas por *Candida sp*, por lo que si se tiene una dieta rica en carbohidratos la adhesión se verá incrementada.

La adhesión de *Candida albicans* a las superficies mucosas está envuelta de interacciones propias de lectina, también la porción proteica de manoproteínas localizada en fibrilas sobre la superficie de la levadura y de receptores glucósido sobre las células epiteliales^(6,19)

Existe una adhesina en la superficie de *Candida albicans*, que es de tipo manana o manoproteína, esta molécula le permite a la levadura enlazarse a los glucósidos de la célula del hospedero, enlazarse también a los carbohidratos de la propia levadura y de la célula del hospedero y presentarse como un componente integral de la membrana celular, uniéndose a los carbohidratos que se encuentran sobre la superficie de la levadura⁽⁹⁾

Existe una clasificación⁽¹⁵⁾ en la que se encuentran 5 sistemas, establecida por la adhesina de *Candida albicans*, enfocada en la naturaleza de la adhesina y de los ligandos de

las células del hospedero reconocidos por la adhesina.

- Sistema I

Las células epiteliales de la mucosa vaginal y bucal poseen ligandos glucósidos con terminales fucosil o N-acetilglucosamina, residuos reconocidos por la manoproteína de la superficie celular de la levadura. La adherencia es específica, ya que hay un reconocimiento de los residuos de azúcar antes mencionados, la interacción realizada es de proteína oligosacárido.

- Sistema II

La manoproteína de *Candida albicans* simula a los receptores de complemento de células animales con respecto al reconocimiento del ligando. Los receptores del complemento de las células reconocen los productos de conversión de C3, iC3b ó C3d (ligandos), estos receptores funcionan para mediar la fagocitosis vía complemento y en la adhesión de neutrófilos (iC3b) o regulación del crecimiento de linfocitos B (C3d).

Además esta manoproteína enlaza a otros ligandos como fibrinógeno, laminina y fibronectina, y otros componentes similares; la secuencia encontrada en común en estos ligandos es arginina-glicina-ác. aspártico. La interacción es proteína-proteína y la adherencia es específica.

- Sistema III

El epítipo 6 de la manana es el responsable de la adherencia, esto se ha comprobado por medio de cepas mutantes, faltantes de este epítipo que disminuye su adherencia a las células epiteliales. Este sistema difiere de los anteriores en que la adhesina es un oligosacárido en vez de una manoproteína, el ligando de la célula hospedera es desconocido.

- Sistema IV

La quitina funciona como adhesina, el ligando de la célula hospedera es desconocido.

- Sistema V

La adhesina es una manoproteína reconocida por un receptor manosil de los macrófagos esplénicos. La interacción que se lleva a cabo es oligosacárido-proteína.⁽¹⁵⁾

Hay diferencias en la adherencia de cada especie de *Candida sp*, se ha comprobado que *Candida albicans* presenta mayor adherencia que *Candida krusei* y *C. parapsilopsis*.

⁽¹⁵⁾

Al adherirse la levadura a las células endoteliales se genera una inflamación en el hospedero, las células infectadas con *Candida sp* sintetizan una mayor cantidad de prostaciclina y más PGF₂ y PGE₂, éstas a su vez regulan la producción de superóxido en los neutrófilos y adherencia celular, además de que se estimulan la producción de prostaglandinas; *Candida albicans* estimula la síntesis de ciclo-oxigenasa, la enzima que convierte al ácido araquidónico en prostaglandinas, hay una mayor cantidad de la clase PH que de la clase E. La disfunción de los macrófagos depende del exceso de prostaglandinas E y por ende inhibe la función de las células T^(4,15,22)

Además de los neutrófilos en los individuos secretores SIgA juega un papel muy importante en la defensa contra candidosis oral, las moléculas de IgA inhiben la adherencia de *Candida albicans* a las células epiteliales, al unirse estos anticuerpos a la superficie de la levadura, aunque las especies de *Candida albicans* producen y secretan proteinasas, siendo abolida esta ruta de protección y el riesgo de que la mucosa sea penetrada por los antígenos microbianos es incrementada.⁽⁸⁾

2. Formación de pseudohifas.

En 1844 se reportó la habilidad de *Candida albicans* para formar pseudofilamentos, esta capacidad que tiene le ayuda a la levadura para escapar de la ingestión macrófaga, siendo necesaria para la invasión de los tejidos.

No solamente la especie de *Candida albicans* tiene la capacidad para formar pseudofilamentos o incluso filamentos verdaderos; existen otras especies oportunistas que tienen esta capacidad a excepción de *Candida glabrata*, este dimorfismo depende de diferentes factores como son, factores nutricionales, ambientales, disminución en la tensión de oxígeno, temperatura, incremento de pH, algunas enzimas e indicios de metales que influyen en la transición de levadura- pseudofilamento; el hierro es necesario para el desarrollo micelial y tanto el hierro como el zinc son necesarios para la gemación, *Candida sp* tiene sideróforos del tipo hidroxamato y fenolato para la captación del hierro, el pH neutro es necesario para la formación de pseudofilamentos, si alguno de estos factores es alterado, el dimorfismo también se verá afectado⁽³¹⁾

La etapa levaduriforme es necesaria para originar la lesión y el pseudomicelio se forma por exposición a los factores ambientales, los cuales provocan inhibición de la división celular, pero no al crecimiento produciendo las pseudohifas alargadas, por lo que se considera que la fase saprofítica es la levadura y la fase infectante es el pseudomicelio; al encontrar a éste en una muestra nos indicará que existe una lesión en esa zona⁽⁴⁾

Los neutrófilos de sangre periférica reconocen a la pseudohifa de *Candida sp* debido al reconocimiento que existe por receptores de superficie de tipo manosa y lectina, por lo que reconocen a las estructuras de la pared celular de la levadura (mananas y manoproteínas). Los mecanismos por los cuales se destruye a la pseudohifa es por medio de los radicales hidroxilo, peróxido de hidrógeno producido por la enzima superóxido

ismutasa que cataliza la producción de H_2O_2 de superóxido en el citoplasma celular de los neutrófilos^(20,21)

3. Producción de toxinas

En los trabajos de Blyth y Stewart⁽³⁷⁾ se reportan pruebas estructurales de una toxina en enfermedades producidas experimentalmente en ratones, Iwata⁽⁴⁾ describió una glucoproteína ácida potente y llega a la conclusión de que era la responsable del eritema y otros efectos dérmicos del cuerpo.

La levadura posee macromoléculas tóxicas, tales como las glucoproteínas de la pared celular, las cuales son capaces de causar fiebre o incluso la muerte en animales de experimentación, también los demás componentes celulares de la levadura^(1,4,37).

4. Secreción de enzimas hidrolíticas.

La proteasa ácida extracelular producida por *Candida albicans*, es uno de los factores de virulencia asociado con este microorganismo, y de éste el grado de virulencia correlacionado con el nivel de proteinasa producida, de manera que mientras se incrementa la producción de esta enzima la virulencia será mayor.

La proteinasa es una enzima extracelular producida por *Candida spp*, fue descrita por primera vez en 1965 por Staib⁽¹⁰⁾ quien caracterizó la enzima y la asoció con una posible ruta de patogénesis y con un potencial para usarse como un agente de serodiagnóstico. En 1980 se demostró la expresión de esta enzima en tejidos infectados *in vivo*.

En estudios recientes indican que la actividad de la proteinasa aspartil secretada (Sap), es el producto de una familia de multigenes de Sap, los cuales exhiben un complejo de expresión regulado por estímulos ambientales y genéticos, los 5 miembros de esta familia ya han sido identificados, 4 de ellos son clonados y el quinto es definido solamente

por la secuencia amino terminal. La expresión de 3 de estos es monitoreada directamente en Western blot y se ha visto que difieren en la masa molecular y punto isoelectrico (pI).

Los 4 genes codifican para una proteína de aproximadamente 43 kDa, de aproximadamente 340 aminoácidos, son idénticas en 8 a 15 posiciones y cada una tiene diferente especificidad para los sustratos, al ser purificada se encontró que es una carboxil proteinasa y que contiene a una manana como parte integral de la molécula^(10,32,37,40)

El pH óptimo de esta enzima proteolítica extracelular es en un rango de 3-5.5 y es inactivada irreversiblemente a pH mayores de 6; existe una enzima proteolítica intracelular que su pH óptimo de actividad es de 6.6. La regulación del pH es importante para la expresión de ésta, si el pH disminuye se verá favorecida la producción de esta enzima extracelular *in vivo*, por ejemplo las dietas ricas en carbohidratos disminuyen el pH en un rango de 4-5 favoreciendo así la actividad proteolítica de *Candida albicans*^(26,28-30,33,36,38-39).

La saliva es un fluido normal de cavidad oral, con un pH de 6.8 en condiciones normales que inhibe completamente la expresión de la actividad proteolítica de *Candida albicans*, al parecer es improbable que *Candida albicans* pueda producir proteinasa extracelular en condiciones naturales, aún así las condiciones que conducen a la producción, actividad y estabilidad de proteinasa de *Candida albicans* existen en la cavidad oral^(39,36)

Las proteinasas producidas *in vivo* presentan sustratos naturales, puede ser cualquier proteína inespecífica de la mucosa como lactoferrina, lactoperoxidasa y mucina, esta enzima puede hidrolizar también las inmunoglobulinas secretadas en saliva, factores del complemento, proteínas de la piel, etc., esta proteinasa puede ser expresada *in vitro* colocando como única fuente de nitrógeno a cualquier proteína; el nitrógeno de bajo peso molecular como aminoácidos o sulfato de amonio reprimen la producción de la enzima

proteolítica. Los principales sustratos utilizados para la expresión de la enzima son hemoglobina, albúmina de suero bovino (BSA) y extracto córneo^(24,26,28,31,37)

Las cepas de *Candida albicans* productoras de proteinasa causan una infección más extensa que las cepas deficientes de ésta; la producción elevada de esta enzima es un aspecto muy relevante de la adaptación de *Candida albicans* a los tejidos del hospedero y la virulencia de la cepa, la presencia de cepas productoras de proteinasas, puede agravar teóricamente la condición de pacientes inmunocomprometidos; se ha encontrado que las cepas aisladas de pacientes VIH(+) con problemas de candidosis, producen niveles elevados de proteinasas, por lo que estas cepas son más virulentas que las aisladas de portadores sanos^(25,34,38)

La proteinasa extracelular producida por *Candida albicans* participa en la invasión de tejidos, promueve la adherencia y penetración a la superficie celular del hospedero, se encontró una disminución significativa en la adherencia en experimentos donde se inhibía por medio de péptidos a la proteinasa de *Candida albicans*.⁽³³⁾

Se han encontrado anticuerpos específicos en contra de la proteinasa ácida, además ésta se ha mostrado histológicamente en lesiones producidas por *Candida sp* en riñón y otros órganos por medio de inmunofluorescencia indirecta. Por ser un potente antígeno se sugiere que pruebas de rutina secuenciales para anticuerpos purificados de la proteinasa de *Candida albicans* puede facilitar la especificidad del diagnóstico para candidosis sistémica, debido a que los cuadros clínicos son muy similares a los de septicemia bacteriana^(14,33,34,37)

Candida albicans puede sobrevivir intracelularmente en los fagocitos, debido a que el pH dentro de los fagolisosomas es de 4.7-4.8 y favorece la actividad de la hidrolasa ácida lisosomal; después de la ingestión de los fagocitos la levadura expresa rápidamente la proteinasa, además de la formación de los tubos gremiativos por las levaduras ingeridas

puede sumarse a la destrucción del fagocito^(27,44,46)

La introducción de los inhibidores de proteasa en pacientes VIH(+) está acompañada en un decremento de infecciones oportunistas; esto tiene un interés especial porque la proteinasa aspártica secretada y la HIV proteasa corresponden a una clase de proteasas aspárticas, en consecuencia la inhibición de Sap por inhibidores de proteasa, puede resultar en una disminución de la velocidad de colonización de *Candida albicans* y manifestaciones de candidosis oral⁽⁴¹⁾

La levadura de *Candida albicans* posee otras enzimas, además de la proteinasa; que son relacionadas con la patogenicidad de ésta. como son: la hialuronidasa, fosfolipasa; colagenasa, α -glucosidasa y condroitin sulfatasa. existen diferentes tipos de fosfolipasa: A,B,C y lisofosfolipasa; la hialuronidasa y la condroitin sulfatasa son consideradas como factores importantes en la patogénesis de *Candida albicans*, debido a que utiliza el tejido periodontal, especialmente el ácido hialurónico y el sulfato de condroitina para su crecimiento; la α -glucosidasa hidroliza el α -glucopiranosil enlazado a varios sustratos, incluyendo disacáridos como maltosa y sucrosa^(42-43,45)

La capacidad de producir una o varias de estas enzimas influye en la virulencia de la cepa, ya que las cepas que producen las 4 enzimas son altamente virulentas; la mayoría (73%) de las cepas de *Candida albicans* producen las 4 enzimas.⁽⁴²⁾ Cuando *C. albicans* invade la piel, adquiere sus nutrientes del tejido queratinizado, *C. albicans* produce una proteasa queratolítica (Kpasa), cuando se cultiva con extracto córneo como fuente de nitrógeno⁽³⁵⁾

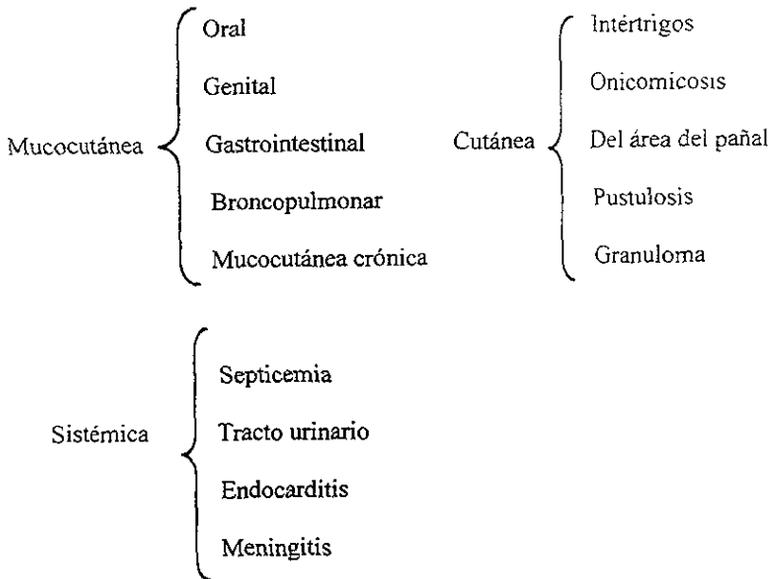
La actividad proteolítica fue demostrada más frecuentemente en especies *Candida albicans*, *Candida tropicalis* por lo que se dice que son más virulentas, y menos en las

especies *C. krusei*, *C. nacedoniensis*, *C. parapsilopsis* y *C. glabrata*.⁽²⁹⁾

Candida albicans es un microorganismo oportunista, encontrado en cavidad oral como miembro de la flora normal, en más de la mitad de la población humana; las relaciones parásito-hospedero y la expresión de la enfermedad depende del equilibrio que existe entre ellas, también de la virulencia del microorganismo y las defensas del hospedero^(26,33,36)

VARIEDADES CLINICAS

La candidosis es una de las infecciones más frecuentes y polimórficas que atacan al hombre, su nivel de profundidad o sistematización no depende tanto del agente etiológico en sí, sino del factor predisponente con el que se asocia.⁽⁵⁾ Las diferentes variedades clínicas que se presentan son las siguientes:



- **Candidosis mucocutánea.**

Candidosis oral. Es comúnmente llamada algodoncillo, trush o muguet, es frecuente en niños RN por su bajo pH, y se obtienen por un fuerte inóculo de la madre a través del canal de parto, sobre todo cuando ésta ha presentado candidosis vaginal en el último tercio del embarazo. En los adultos se presenta en lengua (glositis), pero puede afectar también encías, paladar o incluso invadir toda la boca (estomatitis).

La morfología típica es de placas pseudomembranosas, cremosas y blanquecinas, con fondo eritematoso, que simulan restos de leche o crema.

La sintomatología más común es ardor y dolor que por lo general impiden la alimentación sobre todo en niños. Cuando el cuadro se hace crónico es posible ver parasitación completa de la lengua, dando el aspecto de una lengua peluda; pueden además presentarse fisuras y úlceras sumamente dolorosas. La candidosis oral se puede extender afectando los labios a nivel de las comisuras, a lo que denominan "boqueras" o perleche candidósico, generalmente constituidos por placas eritroescamosas y erosionadas.

A partir del foco bucal la candidosis puede continuar hacia tráquea, laringe, etc, esto es frecuente verlo en pacientes con linfomas, leucemias y SIDA.

Bajo el punto de vista estomatológico la candidosis oral se puede dividir en dos tipos:

1. Agudo comprende la variedad clínica más común que es la pseudomembranosa (thrush o algodoncillo) y la atrófica que se presenta más en paladar y es propia de pacientes bajo antibioticoterapia prolongada, es más frecuente en niños RN y en pacientes debilitados.
2. Crónica, que incluye a varias formas: queilitis casi siempre angular, a veces acompañada de estomatitis crónica o bien en pacientes aprensivos con escasa dentadura; la atrófica crónica o llamada también estomatitis subplaca debido a que se presenta una placa biadherida y se relaciona a pacientes con prótesis mal adaptadas; la hiperplásica, clínicamente indistinguible de la vellosa de origen viral, se presenta sobre todo en los carrillos, la lengua y es común en pacientes con SIDA, y por último la candidosis mucocutánea crónica, que es una entidad más granulomatosa y crónica se encuentra frecuentemente en personas con deficiencias nutricionales.⁽⁵⁻⁴⁷⁾

Candidosis genital.

a) candidosis vaginal. Es la infección más frecuente y recurrente, que afecta al aparato genital de la mujer, se presenta normalmente en la edad productiva, aunque es posible verla en niñas RN. En mujeres adultas ancianas, más bien se le atribuye a enfermedades o procesos concomitantes, como la diabetes.⁽⁵⁾

Se encuentra entre un 20-60% en mujeres embarazadas, en etapas premenstruales y pacientes que se administran anticonceptivos orales ⁽⁵⁾

Se presenta un abundante exudado blanquecino (leucorrea), espeso, grumosos, no fétido. La mucosa generalmente se encuentra eritematosa, inflamada y las pacientes refieren intenso prurito y ardor vulvar. Pocos son los casos que se diseminan a tracto urinario.

b) Balanitis. Es frecuente en pacientes diabéticos. la mayor parte de los casos provienen de contagio sexual.

El cuadro clínico es el de una balanitis superficial constituida por eritema, micropústulas, erosiones y fisuras.

Candidosis gastrointestinal

a) Esofagitis . Proviene por lo regular de candidosis oral, es común en pacientes con leucemia, diabéticos descompensados, con SIDA, etc.

b) Gastritis. Sólo se presenta en candidosis generalizadas.

c) Peritonitis. Se asocia a pacientes que sufren de úlceras, cateterismo o traumatismos quirúrgicos.

Candidosis respiratorias

a) Candidosis broncopulmonar. Es frecuente y crónica en pacientes inmunodeprimidos. La parasitación se presenta en todo el árbol bronquial y en ocasiones genera cuadros de hipersensibilidad inmunológica (alergia).

b) **Candidosis pulmonar.** Se caracteriza por ataque al estado general del paciente y se presenta casi siempre asociado con padecimientos o enfermedades que abaten severamente la respuesta inmune. A partir de este cuadro clínico, es muy fácil la diseminación a torrente sanguíneo y SNC (sistema nerviosos central).

Candidosis mucocutáneas crónicas. Se presenta en niños con desórdenes genéticos, defectos en la función del timo que llevan a alteraciones en la inmunidad celular. Los más comunes son agamaglobulinemias, síndrome de DiGeorge y Nezelof Allibone, hipoparatiroidismo y timomas.

- **Candidosis cutánea.**

Intertrigos. La topografía cutánea preferente son los pliegues, como son: Interdigitales de manos y pies, inter y submamario, axilar, inguinal, umbilical e interglúteo.

Son placas eritematoescamosas, con fisuras o erosiones, vesículas, pústulas y costras hemáticas; por lo general no presentan borde activo, tienen pequeñas lesiones satélites. La sintomatología más comunes prurito y en ocasiones ardor.

Onicomycosis. Se presenta en un 85% en uñas de la mano, es frecuente que se origine por diabetes, traumatismos y por exceso de humedad.

a) **Perionixis** 70% se inicia por el borde proximal o lateral, hay inflamación alrededor de la uña (perionixis).

b) **Onicolísis** Se inicia por el borde libre provocando el desprendimiento de la uña.

Candidosis del área del pañal. Intenso prurito y ardor (por humedad y pH)

- Candidosis sistémica o profunda

Se presenta en pacientes con algún daño severo en su sistema inmune.

En el tracto urinario es común en pacientes con corticoterapia, diabéticos y cateterismo.

Endocarditis. Cateterismo crónico y drogadictos.

Meningitis. Son raras y casi siempre comunes en pacientes leucémicos, diabéticos tratados con corticoesteroides sistémicos.

Septicemia. Es propia de pacientes severamente inmunosuprimidos, su sintomatología se confunde fácilmente con septicemias bacterianas.

El SIDA es un síndrome con un índice de mortalidad muy alto y que va incrementando hasta la fecha, no respeta edad ni sexo, ya que afecta tanto a jóvenes como a adultos, a mujeres y hombres tanto homo como heterosexuales.

Se transmite por medio de relaciones sexuales, intercambio de fluidos corporales, productos de sangre transfundidos, intercambio de jeringas en los drogadictos, etc.

El virus de VIH infecta a los linfocitos TH (CD₄) de la respuesta inmune por lo que la cantidad de éstos se verá disminuida en gran proporción, debido a que son eliminados del torrente sanguíneo por los linfocitos T citotóxicos (LTc), debido a esto la inmunidad celular de estos pacientes se ve disminuida por lo que son propensos a sufrir diversas infecciones oportunistas. Una de las principales infecciones oportunistas que sufren es candidosis oral, ya que las infecciones causadas por *Candida* son una causa importante de morbilidad y ocasionalmente mortalidad en pacientes VIH(+), por lo que muchas veces el presentar una

candidosis oral recurrente más un factor predisponente se podría considerar como un indicador de infección por VIH.^(48-50,53,57)

Durante la infección de VIH el 88% de todos los pacientes sufren de candidosis oral, el agente etiológico más frecuentemente aislado es *Candida albicans*, la candidosis oral en pacientes con VIH es dependiente de la cantidad total de linfocitos TH (CD₄), por lo que la frecuencia de aislamiento de *Candida sp.* y los signos clínicos de candidosis oral incrementa con el avance de la infección y con la disminución de el ratio TH (CD₄) / Tc/s (CD₈).^(51,54,55)

La manifestación clínica prototipo en pacientes con SIDA es candidosis mucocutánea (thrush), las lesiones orales y periorales son comunes, la forma eritematosa es la más común y presenta lesiones rosadas o rojas sobre el paladar y lengua; la candidosis esofágica ocurre en un 15% de pacientes; trush (candidosis pseudomembranosa), cuando la cantidad de células CD₄ es 200/mm³ y candidosis esofágica cuando la cantidad de CD₄ es menor de 100 células por mm³.⁽⁵⁶⁾ Otras de las micosis oportunistas que sufren estos pacientes son criptococosis y aspergilosis.⁽⁵⁸⁾

Los pacientes neutropénicos y que sufren cáncer no hematológico como los que sufren de leucemia linfocítica; muchos agentes de la quimioterapia usados en el tratamiento de cáncer tienen efectos tóxicos, como mielosupresión (disminución de la serie roja blanca y plaquetas), los cambios en la agudos o crónicos en la saliva corresponden a la dosis de radiación, área de tratamiento y edad del paciente; el compromiso de la función salivar secundaria a la destrucción de tejido glandular por la radiación es uno de los mayores factores para sufrir infección por *Candida*.⁽⁶⁰⁾ produciendo candidosis, esta infección oportunista puede ser la causa de diseminación y productora de candidosis sistémica.⁽⁶²⁾

En pacientes con leucemia linfocítica aguda y prolongada neutropenia, el tratamiento con múltiples antimicrobianos por largos periodos de tiempo, permite la proliferación de *Candida* a nivel de intestino, lo cual está asociado con un alto riesgo de desarrollar candidemia, que por lo regular tienen muy mal pronóstico; se ha propuesto que el paso de *Candida* a través de la mucosa al sistema linfático y circulación venosa, es el mecanismo mediante el cual este microorganismo pase a torrente circulatorio. Recientes estudios indican que los catéteres intravasculares que permanecen por largo periodo favorecen las infecciones por *Candida*, las canalizaciones favorecen principalmente la infección por *Candida krusei*, *C. glabrata* y *C. tropicalis*.

Debido a la poca sensibilidad de los hemocultivos, la inhabilidad de realizar biopsias u otros procedimientos de diagnóstico invasivos en pacientes con desórdenes de coagulación, se ha buscado un diagnóstico serológico que son: inhibición de la hemaglutinación, radioinmunoensayos, electroforesis, inmunoensayos enzimáticos, que tienen como fundamento detectar mananas como antígenos, así como polisacáridos de la pared celular de las especies de *Candida*, también la detección de manosa por cromatografía en suero y la detección de anticuerpos contra la proteinasa ácida de *Candida*.
(59,61)

Debido a las frecuentes infecciones oportunistas por *Candida* en los pacientes que presentan infección de VIH o de diversos cánceres hematológicos, se les debe dar un tratamiento profiláctico.

La profilaxis con fluconazol previene la colonización e infecciones superficiales por *Candida sp.*, aunque las bacterias son usualmente los patógenos primarios en pacientes neutropénicos, las infecciones fúngicas incrementan en frecuencia en pacientes con leucemia aguda y son responsables de la mayoría de infecciones fatales. Las especies de

Candida son los hongos patógenos, predominantes seguidos por *Aspergillus*, y *Zigomycetes* ^(61,64-66)

Los pacientes pueden ser infectados con poblaciones heterogéneas de levaduras con selección durante la terapia de cepas más resistentes, la resistencia se debe a recombinación mitótica y diversidad fenotípica; ⁽⁵²⁾ en los casos de resistencia a los azólicos se ha visto que hay una menor concentración intracelular del fármaco, producción excesiva de 14- α -desmetilasa, alteración de la 14- α -desmetilasa y mutación concomitante de la desaturasa C5-6 ⁽⁶⁷⁾

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO.

La toma de muestra es variable ya que la candidosis se puede presentar en todas partes del cuerpo, así que los productos que se recolectan son: exudados, escamas, sangre, esputo, orina, LCR, etc.

Examen Directo: Es recomendable para detectar las blastoconidias en muestras patológicas líquidas o semilíquidas; se coloca entre porta y cubreobjetos; las escamas de piel así como las muestras de esputo, se tratarán con un aclarante, de preferencia una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10%, seguido de un calentamiento a la flama para acelerar el aclaración, se pueden realizar tinciones como Gram, Wright, Giemsa y PAS.

La observación al microscopio se realiza con los exámenes directos o tinciones, con los objetivos de 10x y 40x, la presencia de grandes acúmulos de blastoconidias de aproximadamente 2 a 4 μm de diámetro y pseudomicelio corto o largo, determinan el estado patógeno y virulento de la levadura.

Cultivos: Crecen en la mayor parte de medios habituales como: Sabouraud, gelosa sangre, BHI (Infusión cerebro corazón), extracto de levadura, algunas especies son inhibidas por la cicloheximida; las colonias de *Candida sp* son similares en casi todos los medios: crecen de 2 a 3 días a 28°C o 37°C, colonias blanquecinas, húmedas, limitadas, opacas, redondas, cremosas, convexas; al realizar un examen directo de las colonias se observarán blastoconidias.

Existen otros medios de selección para el género *Candida sp* como el Biggy que contiene una gran cantidad de citratos que elimina la flora bacteriana y sulfitos que son

reducidos a sulfuros, de modo que las colonias se ven de color café claro u oscuro, lo que las hace distinguibles de las otras levaduras.

El medio CROMagar-*Candida* y el medio de cloruro de tretazolio (TTC) es a base de sales cromógenas, las sales de tretazolio pueden ser usadas como identificadores biológicos para diferenciar las diferentes especies de *Candida sp*, dependiendo de la habilidad para reducir esta sal insoluble, produciendo depósitos coloridos intracelulares. En estos medios la levadura se desarrolla de manera favorable dando excelentes resultados.^(5. 63)

Otras sales de tetrazolio son usadas como sulfito de bismuto, selenito, telurito y molibdeno.^(5.63)

En el medio de CROMagar-*Candida* las colonias son cromógenamente bien diferenciadas *Candida albicans* da una colonia verde, *Candida tropicalis* una colonia azul grisásea. *Candida krusei* rosa pálido; de manera que en un primoaislamiento podemos diferenciar si el padecimiento se trata de una ó más de una cepa por medio de las colonias de diferente color que haya en el cultivo.⁽⁵⁾

Biopsia: Es útil solamente en los casos cutáneos profundos, se observa un granuloma tuberculoide acompañado de estructuras fúngicas (blastoconidias y pseudofilamentos).

Rayos X: Sólo en los casos pulmonares.

Pruebas inmunológicas: No son muy útiles debido a que el 30-60% de la población sana tiene una respuesta positiva para la candidina.

Serología: Es útil para los casos profundos y sistémicos, en caso de candidosis mucocutánea no es útil porque la mayoría presenta anticuerpos contra *Candida albicans*, no ayudando en el diagnóstico.

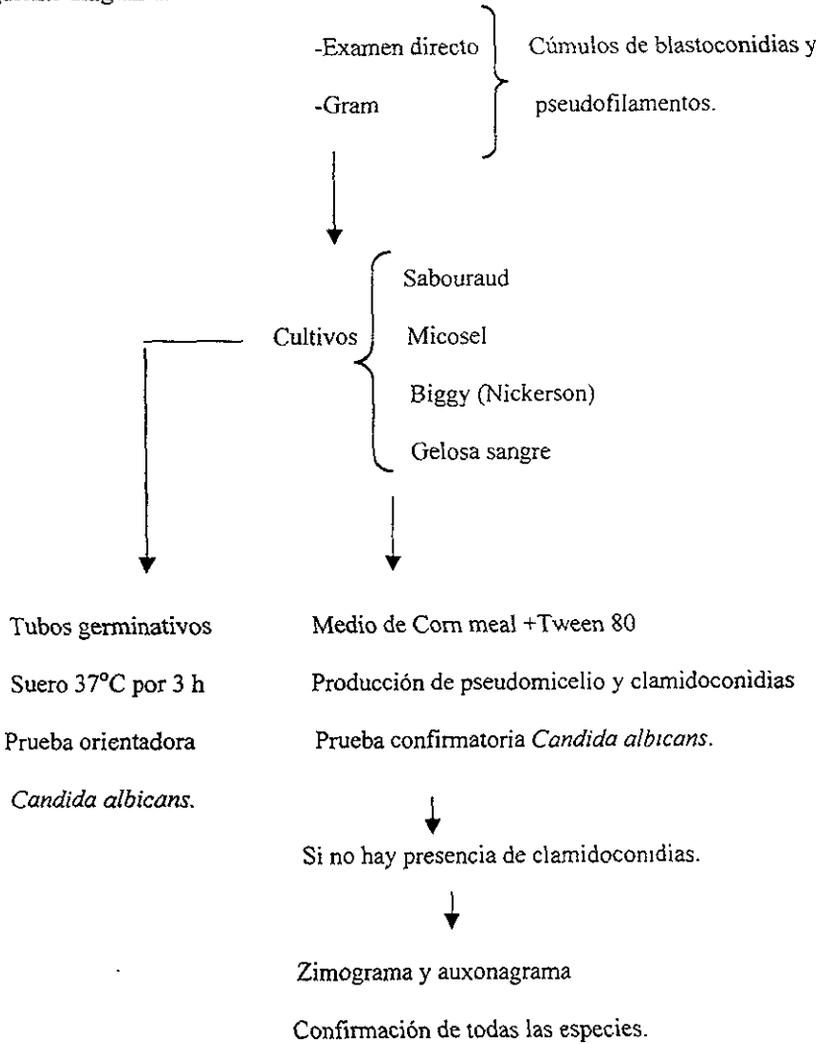
MICOLOGÍA

El género *Candida* incluye un variado número de especies, pero sólo algunas de ellas son oportunistas sobresaliendo *Candida albicans*.

Todas las especies de *Candida* se reproducen por blastoconidias, al igual que las bacterias, su tipificación se hace a base de pruebas fisiológicas y morfológicas, las más importantes son las siguientes:

- Filamentación en suero: Se basa en la formación de un tubo germinativo en suero humano o sueros con glucosa, glucosamina o sales de amonio a cierto tiempo; incubando a 37°C durante 3 a 3.5 h, es presuntiva de *Candida albicans*.
- Producción de pseudomicelio y clamidoconidias: Se llevan a cabo en medios pobres y tensos como harina de maíz (Corn meal) o papa zanahoria, a los que se les agrega un porcentaje de algún tensoactivo como Tween 80, se siembra por medio de estrías anchas incubando a 25°C por 72 h; en el caso específico de *Candida albicans* se ven clamidoconidias terminales o intercalares que miden entre 10 y 12 μm de diámetro con doble membrana bien formada.
- Pruebas bioquímicas: Se basan en la fermentación (zimograma) y utilización (auxonograma) de carbohidratos. Existe un perfil bioquímico que identifica a cada una de las especies de *Candida sp.*

Para un mejor entendimiento de la tipificación de *Candida albicans* podemos seguir el siguiente diagrama:



TRATAMIENTO.

Dependerá del tipo de candidosis y del factor predisponente al que esté ligado.

Tratamiento tópico: Tiene como finalidad corregir el pH con soluciones ácidas (vinagre 1cuch/L de agua), para lavados vaginales y área del pañal, soluciones básicas (solución saturada de bicarbonato de sodio) para realizar colutorios.⁽¹⁻⁵⁾

Nistatina: Es un macrólido tetraénico producido por *Streptomyces noursei*, es muy similar a la anfotericina B, su absorción en el tracto digestivo es muy baja y es sumamente tóxica cuando se administra por vía parenteral, por lo que su uso queda restringido a vía tópica; se usa tópicamente para lesiones mucocutáneas con buenos resultados en forma de ungüentos, cremas, óvulos, geles, etc. Mecanismo de acción. Inhibe la formación de la membrana celular, porque bloquea la síntesis de esteroides a diferentes niveles. Su espectro de acción es amplio, sobre todo contra los hongos levaduriformes y dimórficos, como *Candida sp*, no actúa contra dermatofitos ni levaduras lipofílicas. Dosis 5×10^5 U.^(5,67)

Dentro de las principales reacciones adversas se encuentran dermatitis por contacto, vía sistémica irritación gástrica, náuseas y vómito.

Imidazoles tópicos: Para lesiones intertriginosas.

*Tratamientos sistémicos.

Los antimicóticos azólicos incluyen dos clases generales que son los imidazoles y triazoles. Ambos comparten el mismo espectro y mecanismo de acción contra los hongos.

El mecanismo de acción se basa principalmente en la inhibición de la esteroil 14- α -desmetilasa en los hongos, que es un sistema de enzima que depende de citocromo P450 de microsomas por lo que inhiben la biosíntesis de ergosterol en la membrana citoplásmica, y permite la acumulación de los 14- α -metilesteroides, alterando las funciones de algunos

sistemas enzimáticos de la membrana como ATPasa y enzimas del sistema de transporte electrónico, y de este modo inhibir la proliferación del hongo.⁽⁶⁷⁾

Son terapia de elección para la mayoría de las candidosis, se les debe emplear en casos muy extensos, crónicos y rebeldes a tratamientos tópicos.

Ketoconazol. Es un imidazol fungistático que se utiliza en varias micosis, es efectivo en el caso de candidosis; requiere de un medio ácido para su absorción por lo que su absorción disminuye en personas que ingieren fármacos de bloqueo de receptores H-2 histamienérgicos como cimetidina, ranitidina o famotidina, también en las personas que ingieren antiácidos. Su espectro de acción es contra hongos levaduriformes, hongos bifásicos y hongos dimórficos.⁽⁵⁾

Las dosis habituales son 200mg/día en adultos por 5 días. Los principales efectos adversos que se reportan son náusea, anorexia y vómito. Otros efectos colaterales que se han reportado son: Hepatotoxicidad, leucopenia, oligospermia y ginecomastia.^(5,67)

Itraconazol. Es un triazol, también requiere de un ambiente ácido para su absorción, se une en un 90% a proteínas, es bien tolerado sus efectos adversos más frecuentes son náuseas, diarrea, vómito, erupciones cutáneas y leucopenia. Las dosis son de 1-1.5 mg/Kg; en caso de candidosis 100mg/día, puede duplicarse la dosis a 200 mg/ día en caso de candidosis vaginal durante 3 a 5 días. No penetra a LCR.^(5,67)

Fluconazol Es un bistriazol fluorado. Se absorbe casi por completo en vías gastrointestinales, la presencia de acidez gástrica o alimentos no modifica la biodisponibilidad del fármaco, su tiempo de vida media es de 25 a 30 h y penetra fácilmente a los líquidos corporales incluidos esputo y saliva, en LCR sus concentraciones son de 50-90% de los valores simultáneos en plasma, un 11-12% se encuentra ligado a proteínas. Las dosis más utilizadas son 50-100 mg/día en candidosis bucofaringea, 100-200

mg/día en candidosis esofágica. No constituye un fármaco eficaz en la candidosis profunda en pacientes intensamente neutropénicos. Algunas especies de *Candida*, como *Candida glabrata* y *Candida krusei* pueden ser resistentes a este azol; además se han reportado casos en los cuáles las cepas adquieren resistencia, sobre todo en las candidosis recidivantes. ⁽⁵⁾

Los principales efectos adversos que se presentan son náuseas y vómito cuando las dosis exceden de 200 mg/día.

El fluconazol es el tratamiento de elección para la profilaxis en pacientes con SIDA y pacientes neutropénicos, debido a sus pocos efectos secundarios, además de que pasa la barrera hematoencefálica, aunque se han reportado casos de resistencia a este antimicótico, sigue siendo el tratamiento de elección para candidosis oral en pacientes VIH(+).^(61,64-67)

La Anfotericina B es un macrólido poliélico heptaénico que contiene 7 dobles ligaduras conjugadas en la posición trans y es 3 amino-6,6 dideoximanosa unida al anillo principal por un enlace glucosídico. Es producida por *Streptomyces nodosus* es, insoluble en agua pero se le ha preparado para venoclisis unida en complejos con el desoxicolato, una sal biliar. El complejo se distribuye en la forma de polvo liofilizado 50 mg de anfotericina B, 41 mg desoxicolato y como amortiguador una cantidad pequeña de fosfato sódico, este complejo forma un coloide con agua y sus partículas tienen un diámetro mucho menor de 0.4µm.⁽⁵⁾

Tiene un gran espectro de acción contra especies de *Candida spp*, *C. neoformans*, *Blastomyces dermatitides*, *H. capsulatum*, *C. immitis*, *P brasiliensis*, *Aspergillus*, *Penicillium marneffe* y los agentes etiológicos de mucormicosis, además de algunos protozoos como *Leishmania brasiliensis* y *Naegleria fowleri*. No posee actividad antibacteriana.⁽⁶⁷⁾

Su mecanismo de acción: Se une a la fracción esteroi, en particular al ergosterol que está en la membrana de los hongos sensibles, por su interacción con las membranas de los microorganismos, los polienos forman conductos o poros, el resultado es un incremento en la permeabilidad de la membrana que permite la salida de muy diversas moléculas pequeñas. Otros mecanismos de acción podrían incluir la lesión oxidativa a los hongos.⁽⁶⁷⁾

La resistencia a anfotericina B o nistatina es porque sustituyen al ergosterol por otros esteroleos precursores, aunque estos en algunas veces son poco viables.^(5,67)

La absorción por vía gastrointestinal es insignificante por lo que se administra por vía intravenosa, debe ser intrahospitalariamente disuelta en suero glucosado al 5% (nunca en suero salino porque se precipita), es fotosensible por lo que debe cubrirse para evitar que se destruya el fármaco; se aplica cada tercer día por goteo lento de 5 a 6 horas.⁽⁵⁾ Existe una presentación que no es sensible a la luz, no siendo necesario el cuidado de cubrirse de la luz.

La dosis terapéutica es de 0.5-0.6 mg/Kg de peso que se administra en solución glucosada 5% en un lapso de 4 h. Se utiliza en los casos profundos y sistémicos (pacientes neutropénicos) 0.25 a 0.75 mg/Kg de peso.⁽⁵⁾

Los efectos secundarios más comunes que se presentan durante la administración de la anfotericina B son, cefalea, náuseas, vómito, reacción aguda a la anfotericina B que comprende fiebre y escalofríos, decremento y aumento en la presión arterial, hiperpnea y estridor respiratorio o hipotensión leve, anemia hipocrómica normocítica, malestar general, pérdida ponderal y flebitis en sitios de venoclisis periférica^(5,67). Está comprobado que genera daño hepático, renal y problemas de coagulación sanguínea, debido a esto se recomiendan las siguientes indicaciones:

- 1 h antes se debe administrar un analgésico y antihistamínico.
- La administración debe ser en un tubo Y, una de las vías contiene a la anfotericina B y la otra permanece cerrada conteniendo solución salina, de manera que si se presenta alguna complicación se puede cerrar la entrada del fármaco y se abre la otra vía (suero salino), que tiene como función diluir el medicamento y lavar las venas.
- Cuando la dosis es mayor de 15mg se puede agregar una pequeña dosis de hidrocortisona y heparina, para disminuir los efectos secundarios y evitar los problemas de coagulación sanguínea.
- Debe haber un chequeo constante del estado general del paciente, sobre todo la presión arterial.
- Durante las sesiones deben valorarse los siguientes parámetros: biometría hemática y pruebas de coagulación; pruebas de función hepática, función renal y química sanguínea.

Los pacientes que presentan una neutropenia muy severa, tendrán fiebres que no son eliminadas con los tratamientos antimicrobianos, y debido a que los hemocultivos la mayoría de las veces son negativos, se recurre a la administración de antimicóticos; se ha comprobado que pacientes multitratados con antibióticos sistémicos, y que no se erradica la fiebre al administrar un antimicótico la fiebre desaparece.^(1,5)

Para que cualquier terapia tenga éxito, es necesario que se corrijan y controlen los factores predisponentes, intrínsecos como extrínsecos.

Como medidas profilácticas es recomendable un tratamiento sistémico antimicótico (obligatorio) en pacientes con antibioticoterapia prolongada y en pacientes con enfermedad hematológica.^(5,66)

OBJETIVO

Determinar la producción de proteinasas en cepas de *Candida sp* aisladas de pacientes con candidosis oral.

Determinar la frecuencia de *Candida albicans* aislada como agente etiológico en candidosis oral, en pacientes con LLA (leucemia linfocítica aguda) y VIH (+)

Indicar el porcentaje de *Candida sp* aislada como agente parte de la flora normal en pacientes sanos.

OBJETIVO

Determinar la producción de proteinasas en cepas de *Candida sp* aisladas de pacientes con candidosis oral.

Determinar la frecuencia de *Candida albicans* aislada como agente etiológico en candidosis oral, en pacientes con LLA (leucemia linfocítica aguda) y VIH (+)

Indicar el porcentaje de *Candida sp* aislada como agente parte de la flora normal en pacientes sanos.

HIPÓTESIS

Las cepas de *Candida albicans* son el principal agente etiológico productor de candidosis oral en los pacientes inmunosuprimidos (VIH y LLA), las cepas de *Candida albicans* aisladas de estos pacientes producen niveles elevados de proteinasas, por lo que estas cepas son más virulentas que las aisladas de portadores sanos.

HIPÓTESIS ALTERNA

No existe diferencia en la producción de proteinasas entre el grupo de portadores sanos y pacientes inmunosuprimidos.

METODOLOGIA

Los pacientes fueron seleccionados de los pabellones de infectología y hematología, así como de voluntarios sanos.

30 cepas aisladas de pacientes VIH (+) que presenten candidosis oral.

30 cepas aisladas de pacientes con LLA que presenten candidosis oral.

60 cepas aisladas de personas sanas y que no presentan ningún factor predisponente.

MÉTODO:

1. Tomar muestras de cavidad oral con un hisopo estéril o asa micológica, de los pacientes VIH(+), con LLA que sufran de candidosis oral, así como de los voluntarios sanos.
2. Realizar examen directo de las diferentes muestras y observar al microscopio si se encuentran estructuras parasitarias. Se considerará pacientes que pueden incluirse en el estudio a aquellos que presenten en el examen directo pseudofilamentos y/o abundantes cúmulos de blastoconidias, en el caso de candidosis.
3. Sembrar las muestras obtenidas en los medios de Biggy, Sabouraud y Micosel por 24 a 48 h a 28 °C, para obtener las colonias del agente causal. (primoaislamiento)
4. Observar las características de las colonias obtenidas, realizar un examen directo de las colonias para comprobar que son levaduras. En caso de haber contaminación bacteriana, aislar las levaduras en medio de Biggy.
5. Tomar una colonia aislada y sembrar en medio de Corn meal mas tween 80 al 1%, con estrías anchas en caja de Petri, incubar a 28 °C por 48 a 72 h. La placa se debe observar directamente al microscopio con el objetivo de 10x y 40x. La presencia de pseudofilamentos y clamidoconidias (doble membrana) será indicativo de que la especie es *Candida albicans*.

6. Tomar un inóculo de la misma colonia que se sembró en el medio de corn meal, y sembrar en 3 mL de caldo dextrosa peptona extracto de levadura (YEPD). este medio está compuesto por 1% (m/v) extracto de levadura, 2% (m/v) peptona y 2% (m/v) de dextrosa, incubar por 24 h a 28 °C.
7. La secreción de la proteinasa es ensayada en un medio sólido de agar albúmina; un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro será empapado con el caldo YEPD que contiene el desarrollo de la colonia elegida, resuspender el sedimento formado con movimientos leves antes de empapar el disco, cada disco será para una cepa diferente; Colocar el disco en un extremo del cuadrante de la caja de Petri, siendo 4 diferentes y en el centro un disco con sólo caldo YEPD que servirá como control de trabajo.
8. Incubar las placas por un periodo de 5 días a una temperatura de 37°C, al término de este, las placas serán teñidas con una solución de negro de amido 1% por 5 min. lavando gentilmente 5 a 10 veces con agua corriente, hasta que el color del agua no sea azul.
9. La proteólisis de la albúmina de suero bovino por las especies de *Candida* será notada colocando las placas sobre una lámpara de luz blanca, o contra la luz, observándose una zona incolora alrededor del disco.
10. La actividad de la proteinasa será evaluada con grados, grado negativo (-) cuando no haya halo incoloro o que se encuentre limitada a la parte inferior del disco, grado (+) cuando la proteólisis sea limitada a 1-2 mm alrededor del disco, y grado (++) cuando la proteólisis sea más de 2 mm alrededor del disco.

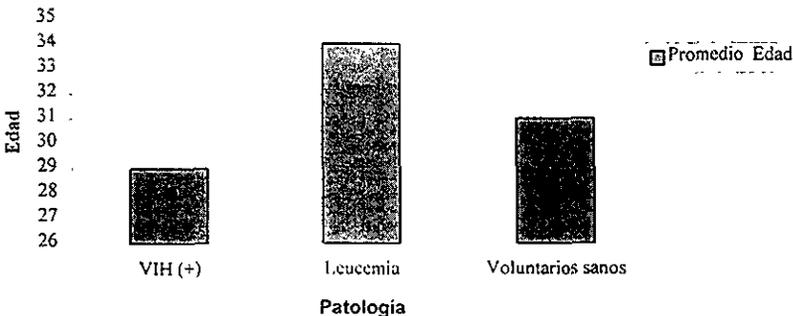
RESULTADOS

Se incluyeron pacientes de 18-65 años de edad, del sexo masculino y del sexo femenino, que presentaron candidosis oral (pseudofilamentos y/o abundantes cúmulos de blastoconidias, en el examen directo), con leucemia e infección por VIH hospitalizados de los pabellones de hematología e infectología del HGM (Hospital General de México), obteniendo los resultados siguientes. De 34 pacientes VIH(+) con sintomatología clínica 30 (88.2%) presentaron candidosis oral, en el caso de los pacientes con leucemia 30 (48.4%) de 62, para el grupo control sólo se incluyeron aquellos en los cuales se aisló *Candida sp* en los cultivos, tomándose muestra a 139 voluntarios sanos y aislándose 60 (43.2%) cepas.

Tabla 1. Distribución sexo y edad en los diferentes grupos.

Patología	Sexo		Promedio Edad
	Femenino	Masculino	
VIH (+)	01	29	29 +/- 6
Leucemia	16	14	34 +/- 13
Voluntarios sanos	28	32	31 +/- 12

Gráfica 1.- EDAD PROMEDIO Y CANDIDOSIS



Gráfica 2.- RELACIÓN SEXO Y CANDIDOSIS

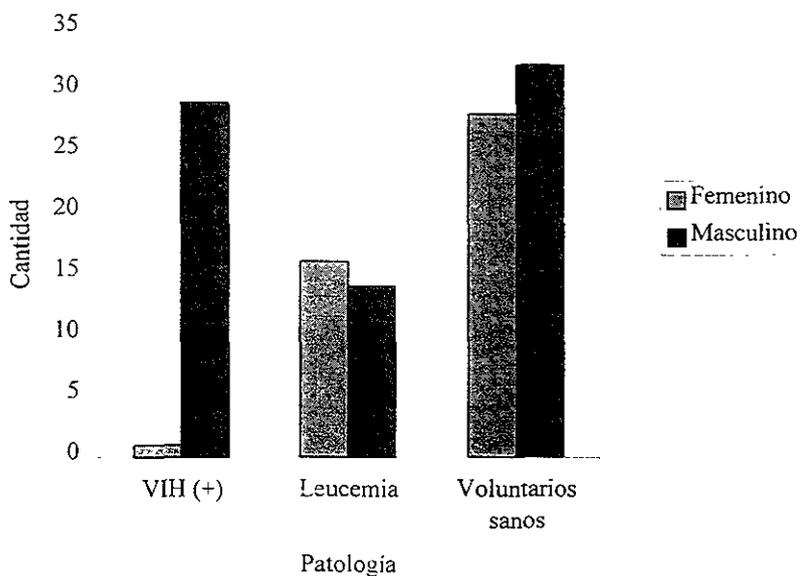
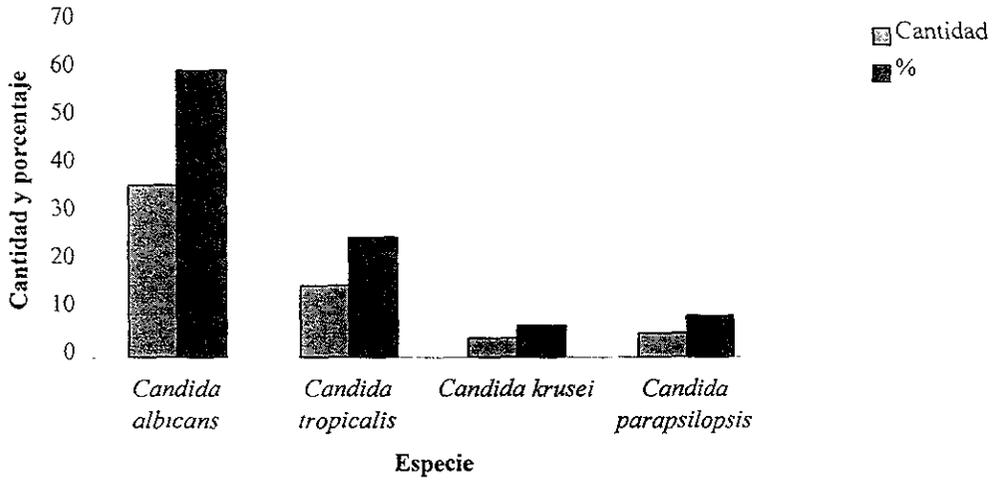


Tabla 2.- Distribución de cepas en voluntarios sanos

VOLUNTARIOS SANOS		
Especie	Cantidad	%
<i>Candida albicans</i>	36	60.0
<i>Candida tropicalis</i>	15	25.0
<i>Candida krusei</i>	04	06.6
<i>Candida parapsilopsis</i>	05	08.6

Gráfica 3.- ESPECIES DE *Candida* PRESENTE EN VOLUNTARIOS SANOS



Se aislaron varias especies en los diferentes grupos, siendo los siguientes:

Tabla 3.- Especies aisladas en los pacientes VIH(+)

PACIENTES VIH(+)		
Especie	Cantidad	%
<i>Candida albicans</i>	30	100

Tabla 4.- Diferentes especies en los pacientes con leucemia.

PACIENTES CON LEUCEMIA		
Especie	Cantidad	%
<i>Candida albicans</i>	20	66.6
<i>Candida tropicalis</i>	05	16.6
<i>Candida krusei</i>	03	10.0
<i>Candida parapsilopsis</i>	02	06.6

Gráfica 4. DISTRIBUCIÓN *Candida* EN PACIENTES CON LLA

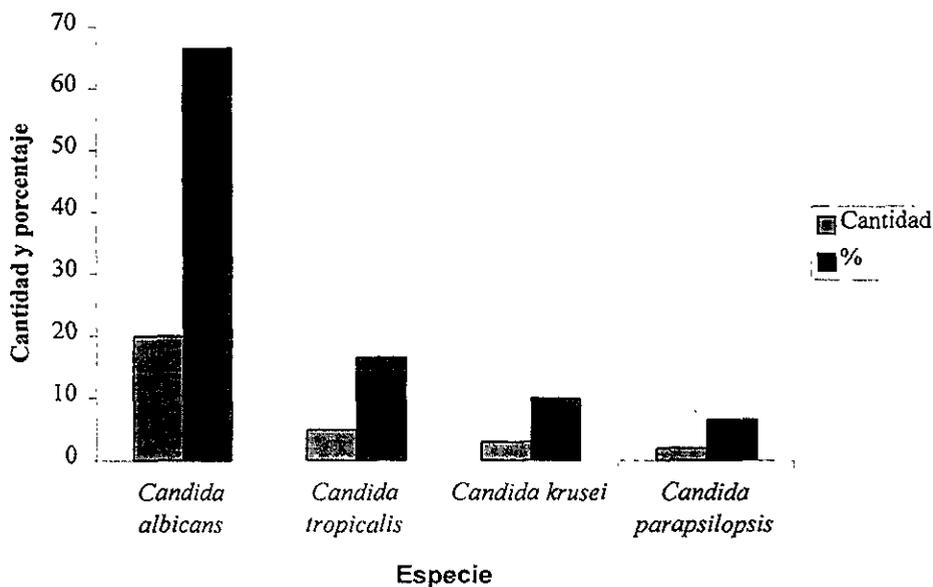


Tabla 5.- Distribución de cepas en voluntarios sanos

PORTADORES SANOS		
Especie	Cantidad	%
<i>Candida albicans</i>	36	60.0
<i>Candida tropicalis</i>	15	25.0
<i>Candida krusei</i>	04	06.6
<i>Candida parapsilopsis</i>	05	08.6

Resultados de proteólisis:

Tabla 6.- Producción de proteinasas en pacientes VIH(+)

Pacientes VIH(+)				
Especie	Proteinasa (+)	%	Proteinasa (-)	%
<i>Candida albicans</i>	14	46.6	16	53.3

Gráfica 5.- PORCENTAJE DE PROTEINASAS EN PACIENTES VIH(+)

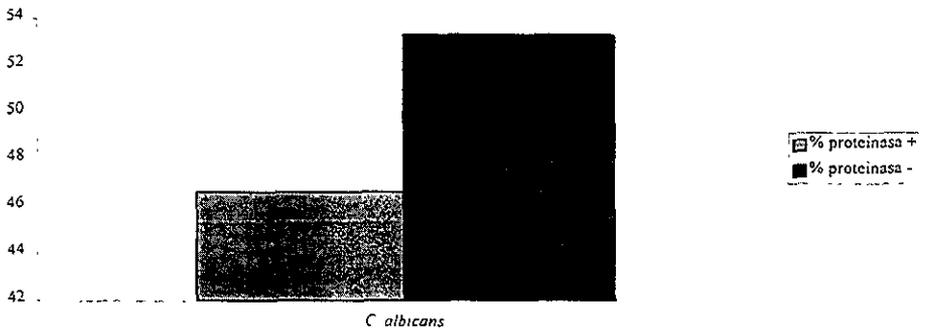


Tabla 7.- Producción de proteinasas en pacientes con leucemia.

Pacientes con Leucemia				
Especie	Proteinasa (+)	%	Proteinasa (-)	%
<i>Candida albicans</i>	09	30.0	11	36.6
<i>Candida tropicalis</i>	03	10.0	02	06.6
<i>Candida krusei</i>	00	00	03	10.0
<i>Candida parapsilopsis</i>	00	00	02	06.6

Gráfica 6.- PORCENTAJE DE PROTEINASAS EN PACIENTES CON LLA

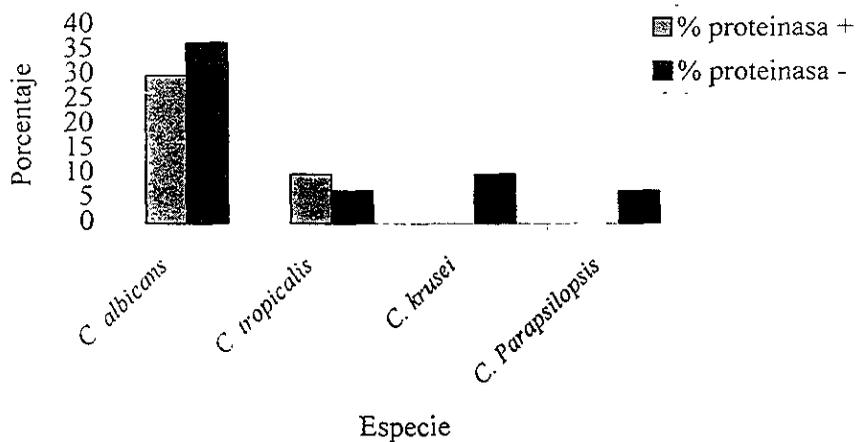
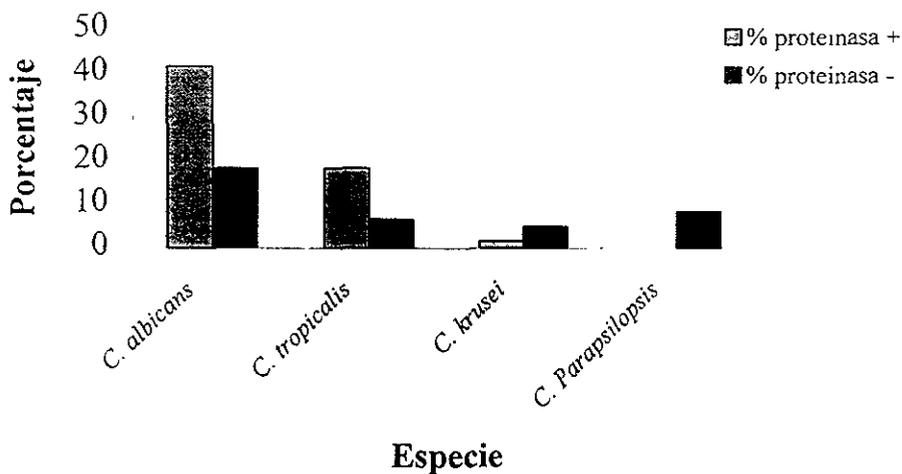


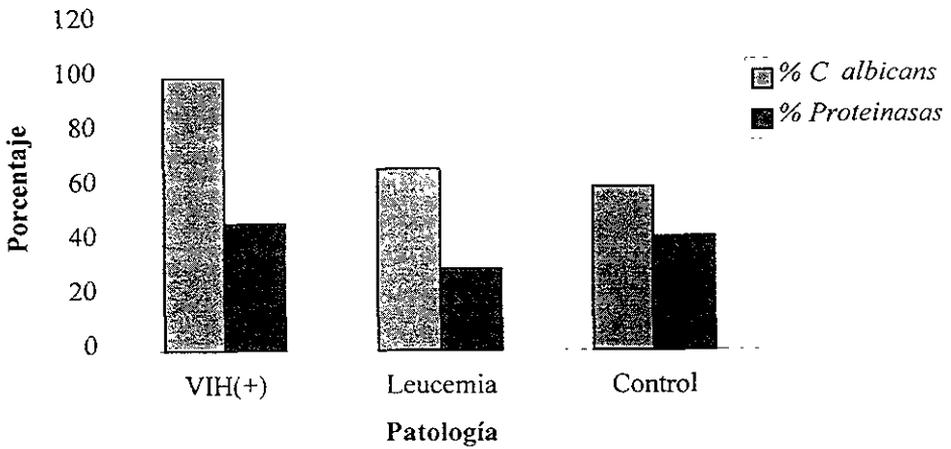
Tabla 8.- Producción de proteinasas en voluntarios sanos

Voluntarios sanos				
Especie	Proteinasa (+)	%	Proteinasa (-)	%
<i>Candida albicans</i>	25	41.6	11	18.3
<i>Candida tropicalis</i>	11	18.3	04	06.6
<i>Candida krusei</i>	01	1.6	03	05.0
<i>Candida parapsilopsis</i>	00	00	05	08.3

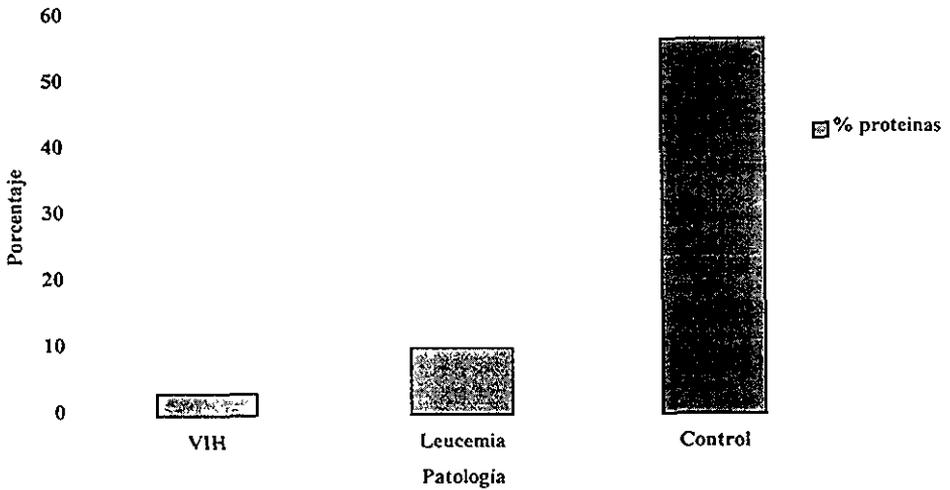
Gráfica 7.- PORCENTAJE DE PROTEINASAS EN VOLUNTARIOS SANOS



Gráfica 8.- PORCENTAJE DE CEPAS DE *Candida albicans* PRODUCTORAS DE PROTEINASAS



Gráfica 9.- PORCENTAJE DE PROTEINASAS DE CEPAS DE *Candida* sp



Se analizó la producción de proteinasas utilizando una prueba de **chi cuadrada**:
 Se parearon los grupos 1 y 2, 1 y 3, 2 y 3.
 Y se obtuvieron los siguientes resultados;

	<i>Grupo 1 y 2</i>		<i>Grupo 1 y 3</i>		<i>Grupo 2 y 3</i>	
	X²	P	X²	P	X²	P
Sin						
Corrección	0.27	0.602	1.83	0.175	3.79	0.051
Mantel	0.27	0.605	1.81	0.178	3.74	0.053
Yates	0.07	0.794	1.27	0.259	2.96	0.085
OR	1.31		0.54		0.41	
RR	0.65-2.09		0.20-1.44		0.40-1.05	
	Acepta Ho		Rechaza Ho		Rechaza Ho	

$\alpha = 0.05$
 2 grados de libertad

Se realizó como prueba estadística X^2 en una tabla de 2x2 comparando los resultados de los diferentes grupos con un intervalo de confianza de 95% y 99.5%, los valores de X^2 teóricos o de tablas son: $X^2_{0.995} = 7.88$ y $X^2_{0.95} = 3.84$; los resultados fueron los siguientes:

- Tabla 9 - Comparación del grupo de inmunocomprometidos (VIH(+)) y Leucemia) contra control

	Proteinasa +	Proteinasa -	Total
Inmunoc	26	34	60
Control	37	23	60
	63	57	120

El valor de $X^2 = 0.04$

- Tabla 10.- Comparación de las cepas de *Candida albicans* contra *Candida spp* productoras de proteinasas en el grupo de pacientes con leucemia

	Proteinasa +	Proteinasa -	Total
C. albicans	09	11	20
<i>Candida spp</i>	03	07	10
	12	18	30

El valor de $X^2 = 0.005$

- Tabla 11.- Comparación de las cepas de *Candida albicans* contra *Candida spp* productoras de proteinasas en el grupo de pacientes control

	Proteinasa +	Proteinasa -	Total
C. albicans	25	11	36
<i>Candida spp</i>	12	12	24
	37	23	60

El valor de $X^2 = 0.04$

DISCUSIÓN

Candida albicans es un microorganismo oportunista, que se encuentra en cavidad oral como miembro de la flora normal, en más de la mitad de la población humana; las relaciones parásito-hospedero y la expresión de la enfermedad depende del equilibrio que existe entre ellas, también de la virulencia del microorganismo y las defensas del hospedero^(26,33,36).

En los resultados podemos ver que se aisló *Candida spp* en un 43.2% de la población de voluntarios sanos, que corresponde a casi la mitad de la población, de éstas un 60% corresponde a *Candida albicans* seguida de *C. tropicalis*, *C. parapsilopsis* y *C. krusei*. (tabla 2 y gráfica 3)

La candidosis oral es una de las micosis más frecuentes en los pacientes inmunosuprimidos, siendo su principal agente etiológico *Candida albicans* primordialmente en los pacientes VIH(+) y los pacientes que sufren cáncer hematológico (leucemia), y si no se toman las medidas adecuadas esta puede diseminarse y causar una sepsis.^(5,66)

La distribución de edad (gráfica 1 y tabla 1), podemos observar que la mayoría se encuentra en el periodo de edad productiva, en el caso del grupo VIH se presenta una desviación menor que en los otros dos grupos, esto nos indica que la mayoría de pacientes afectados presentan una edad menor que en los leucémicos y voluntarios sanos, de hecho podemos ver que en el que se encuentra un mayor rango es en los pacientes con leucemias; esto también sería indicativo de que los pacientes con leucemia tienen un mayor periodo de sobrevida que los pacientes infectados con VIH.

El sexo (tabla 1 y gráfica 2) se encuentra distribuido equitativamente en los grupos de leucemia y control, pero se ve la gran desviación en los pacientes con VIH,

Se analizaron los diferentes grupos con la prueba estadística chi cuadrada para comprobar si existe diferencia significativa entre ellos.

Comparando los grupos 1 y 2 (VIH y leucemia) podemos ver que se acepta la hipótesis nula, concluyendo que no existe diferencia significativa entre estos dos grupos por lo que la producción de proteinasas no es diferente entre ellos.

Comparando los grupos 2 y 3 (leucemia y control) y los grupos 1 y 3 (VIH y control) podemos ver que la hipótesis nula se rechaza, concluyendo que si existe diferencia significativa entre estos grupos, por lo que si existe diferencia en la producción de proteinasas entre ellos

Comparando los grupos de inmunocomprometidos con el grupo control (tabla 9), también encontramos diferencia significativa siendo mayor la producción en el grupo control.

Analizando las cepas de *Candida albicans* productoras de proteinasas podemos ver que en el grupo de leucemia hay una diferencia significativa, por lo que *Candida albicans* produce una mayor cantidad de proteinasas que *Candida spp*, siendo el mismo resultado para el grupo control.(tabla 10 y 11)

La producción de proteinasas es muy importante, debido a que es un factor de virulencia que le ayuda a la levadura a diseminarse, en los pacientes que presentan una supresión en el sistema inmune celular la diseminación por *Candida albicans* hacia otros órganos es más factible; la expresión de la proteínasa puede servir como un antígeno para decirnos si la sepsis se trata por *Candida spp*, siendo una herramienta muy útil debido a que los hemocultivos para *Candida spp* generalmente son negativos, y la respuesta a la candidina no es indicativo debido a que casi todas las personas son positivas por tener contacto con ésta. Un problema es que no todas las cepas de *Candida albicans* producen

esta proteinasa, pero si nos puede indicar que se trata de una cepa más virulenta que las cepas de *Candida* que no producen esta proteinasa.

Se comprobó que las cepas de *Candida albicans* como agente causal de candidosis en los pacientes inmunosuprimidos, producen más proteinasas que las cepas provenientes de la flora normal, siendo un factor importante, debido a que estas cepas pueden ser fuente de infección para los demás pacientes hospitalizados y ser un foco de infecciones nosocomiales intrahospitalarias, además de que estas cepas por ser más virulentas producirán lesiones más graves y en menor tiempo que aquellas que no sean productoras de proteinasas.

Por otra parte las cepas de *Candida tropicalis* produjeron una mayor cantidad de proteinasas en los voluntarios sanos que en los otros grupos.

La expresión de esta proteinasa *in vitro* no es indicativo de que se produzca *in vivo*, tendríamos que realizar un estudio donde se compruebe la expresión de la proteinasa tanto *in vivo* como *in vitro*, que provengan de la misma fuente de infección; ya que la expresión *in vitro* es inducida por el medio de cultivo y que no encuentra fuentes de nitrógeno más sencillas que a partir de las proteínas, por lo que si no se induce la expresión de esta enzima en el microambiente oral, por las diferentes condiciones esta no será producida *in vivo*.

Debido a que la producción de proteinasas es un mecanismo de virulencia, aquellas cepas que sean productoras de estas serán más virulentas que las demás, también habría que analizar todos o la mayoría de los factores de virulencia, que son las otras enzimas, la capacidad de producir pseudofilamentos y toxinas, de manera que aquellas que produzcan la mayor cantidad de estos serán más virulentas.

CONCLUSIONES

El 43.2% de la población de voluntarios sanos es portador de *Candida spp.* como parte de la flora normal, siendo la principal especie *Candida albicans* (60%).

No existe diferencia en la producción de proteinasas entre los grupos de pacientes VIH(+) y Leucemia.

Las cepas de *Candida albicans* aisladas de pacientes inmunosuprimidos produjeron una mayor cantidad de proteinasas que las aisladas de los voluntarios sanos.

BIBLIOGRAFÍA

1. Odds FC. *Candida and Candidosis*. 2nd de London, Bailliere – Tindall.
2. Arenas R. *Micología Médica*. México DF: Interamericana Mc graw –Hill. 1993, pp 223-230.
3. López MR. *Micología Médica* 1^a Edición México DF. Editorial Trillas.1985, pp 99-107.
4. Rippon JW. *Micología Médica* 3^a Edición México. Interamericana Mc Graw-Hill. 1988, pp 574-613.
5. Bonifaz A. *Micología Médica Básica*. 2^a Edición México DF: Méndez Editores. 2000, pp 299-326.
6. Budtz-Jørgensen E. Etiology, pathogenesis, therapy, and prophylaxis of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand* 1990, 48: 61-69.
7. Odds FC. Presidential address. *Candida albicans*, the life and times of pathogenic yeast. *J Med Vet Mycol* 1994; 32(S1):1-8.
8. Budtz-Jørgensen E. Histopathology, immunology. and serology of oral yeast infections. *Acta Odontol Scand* 1990; 48: 37-43.
9. Critchley IA, Douglas JL. Isolation and partial characterization of an adhesin from *Candida albicans*. *J Gen Microbiol* 1987; 133. 629-636.
10. Agabian N, Odds FC, Poulain D, et al. Pathogenesis of invasive candidiasis. *J Med Vet Mycol* 1994; 32(S1):229-237.
11. Kimura LH, Pearsall NN. Relationship between germination of *Candida albicans* and increased adherence to human buccal epithelial cells. *Infect Immun* 1980; 28(2):464-468.

12. Walsh TJ, Pauw de B, Anaissie E. and Martino P. Recent advances in the epidemiology, prevention and treatment of invasive fungal infections in neutropenic patients. *J Med Vet Mycol* 1994; 32(S1):33-51.
13. Röchel R, Tegeler R. and M. Trost. A comparison of secretory proteinases from different strains of *Candida albicans*. *Sabouraudia*. 1982; 20:233-244.
14. Chakrabarti A, Nayak N. and Talwar P. *In vitro* proteinase production by *Candida* species. *Mycopathologia* 1991; 114. 163-168.
15. Calderone R, Diamond R, Senet JM. et al. Host cell-fungal cell interactions. *J Med Vet Mycol* 1994; 32(S1): 151-168.
16. McCourtie J. and Douglas J. Relationship between cell surface composition, adherence, and virulence of *Candida albicans*. *Infect Immun* 1994; 45(1):6-12.
17. Ollert MW, Söhnchen R, Korting HC et al. Mechanisms of adherence of *Candida albicans* to cultured human epidermal keratinocytes. *Infect Immun* 1993; 61(11):4560-4568.
18. Ray TL, Kathleen MD, Digre B. and Payne CD. Adherence of *Candida* species to human epidermal corneocytes and buccal mucosal cells: correlation with cutaneous pathogenicity. *J Invest Dermatol* 1984; 83: 37-41
19. Critchley IA. and Douglas J. Role of Glycosides as Epithelial Cell Receptors for *Candida albicans*. *J Gen Microbiol* 1987; 133: 637-643.
20. Diamond RD, Clark RA. and Haudenschild CC. Damage to *Candida albicans* hyphae and pseudohyphae by the myeloperoxidase system and oxidative products of neutrophil metabolism *in vitro*. *J Clin Invest* 1980; 66: 908-917.
21. Diamond RD. and Krzesicki R. Mechanisms of attachment of neutrophils to *Candida albicans* pseudohyphae in the absence of serum, and of subsequent damage to

- pseudohyphae by microbicidal processes of neutrophils *in vitro*. *J Clin Invest* 1978; 61: 360-369.
22. Filler SG, Ibe BO, Ibrahim AS. et al. Mechanisms by which *Candida albicans* induces endothelial cell prostaglandin synthesis. *Infect Immun* 1994; 62(3): 1064–1069.
23. Macdonald F and Odds F.C Virulence for mice of a proteinase-secreting strain of *Candida albicans* and a proteinase-deficient mutant. *J Gen Microbiol* 1983;129:431-438.
24. Borg M. and Rüchel R. Expression of extracellular acid proteinase by proteolytic *Candida spp.* during experimental infection of oral mucosa. *Infect Immun* 1988; 56(3): 626-631.
25. De Bernardis F, Chiani P, Ciccozzi M. et al. Elevated aspartic proteinase secretion and experimental pathogenicity of *Candida albicans* isolates from oral cavities of subjects with human immunodeficiency virus. *Infect Immun* 1996;64(2):466-471.
26. Germaine GR, Tellefson LM and Johnson GL. Proteolytic activity of *Candida albicans*: Action on human salivary proteins. *Infect Immun* 1978; 22(3): 861-866.
27. Borg M. and Rüchel R. Demonstration of fungal proteinase during phagocytosis of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *J Med Vet Mycol* 1990,28. 3-14.
28. Kwon-Chung KJ, Lehman D, Good C. and Magee PT. Genetic Evidence for role of extracellular proteinase in virulence of *Candida albicans*. *Infect Immun*1985; 49(3):571-575.
29. Jörgensen EB. Proteolytic activity of *Candida spp* as related to the pathogenesis of denture stomatitis. *Sabouraudia*. 1971; 12:266-271.
30. Morrison CJ, Hurst SF, Bragg SL. Et al. Purification and characterization of extracellular aspartyl proteinase of *Candida albicans*: removal of extraneous proteins and

cell wall mannoprotein and evidence for lack of glycosylation. *J Gen Microbiol* 1993;139: 1177-1186.

31 Homma M, Chibana H. and Tanaka K. Induction of extracellular proteinase in *Candida albicans*. *J Gen Microbiol* 1993; 139:1187-1193.

32. White TC, Miyasaki SH. and Agabian N. Three distinct secreted aspartyl proteinases in *Candida albicans*. *J Bacteriol* 1993;175(19): 6126-6133.

33. Cassone A, De Bernardis F, Mondello F, Ceddia T. and Agatensi L. Evidence for correlation between proteinase secretion and vulvovaginal candidosis *J Infect Dis* 1987;156(5):777-782.

34. Ollert MW, Wende C, Görlich M. et al. Increased expression of *Candida albicans* secretory proteinase, a putative virulence factor, in isolates from human immunodeficiency virus-positive patients. *J Clin Microbiol* 1995, 33(10):2543-2549.

35. Negi M, Tsuboi R, Matsui T. and Ogawa H. Isolation and Characterization of proteinase from *Candida albicans*: Substrate specificity. *J Invest Dermatol* 1984; 83: 32-36.

36 Samaranayake LP, Huggies A. and MacFarlane TW. The proteolytic potential of *Candida albicans* in human saliva supplemented with glucose. *J Med Microbiology* 1984; 17:13-22.

37 Macdonald F. and Odds FC. Inducible proteinase of *Candida albicans* in diagnostic serology and in the pathogenesis of systemic candidosis. *J Med Microbiology* 1980; 13: 423-435.

38. Kilic N, Kustimur S, Arslan S. and Aldemir H. Fluorimetric determination of acid proteinase activity in vulvovaginal candidosis. *Mycoses*. 1996;39:347-351.

39. Germaine GR. and Tellefson LM. Effect of pH and human saliva on protease production by *Candida albicans*. *Infect Immun* 1981; 31(1): 323-326.
40. Hube B, Turver CJ, Odds F. et al. Sequence of *Candida albicans* gene encoding the secretory aspartate proteinase. *J Med Vet Mycol* 1991; 29:129-132.
41. Hoegl L, Thoma-Greber E, Röcken M. And Korting HC. HIV protease inhibitors influence the prevalence of oral candidosis in HIV-infected patients: a 2-year study. *Mycoses*. 1998; 41: 321-325.
42. Shimizu MT Almeida NQ, Fantinato V. And Unterkircher CS. Studies on hyaluronidase, chondroitin sulphatase, proteinase and phospholipase secreted by *Candida* species. *Mycoses*. 1996; 39: 161-167.
43. Bramono K, Tsoboi R. and Ogawa H. A carbohydrate-degrading enzyme from *Candida albicans*: correlation between α -glucosidase activity and fungal growth. *Mycoses*. 1995; 38: 349-353.
44. Vazquez N, Buckley HR, Mosser DM. And Rogers TJ. Activation of murine resident peritoneal macrophages by a cell wall extract of *Candida albicans*. *J Med Vet Mycol* 1995; 33: 385-393.
45. Shimizu MT, Jorge AOC, Unterkircher CS. et al. Hyaluronidase and chondroitin sulphatase production by different species of *Candida*. *J Med Vet Mycol* 1995; 33: 27-31.
46. Vecchiarelli A, Bistoni F, Cenci E. et al. In-vitro killing of *Candida* species by murine immunoeffectors and its relationship to the experimental pathogenicity. *J Med Vet Mycol* 1985; 23: 377-387.
47. Ray LT. Oral and perioral candidosis. *Seminars in Dermatology*. 1994;13(2):118-124.

48. Klein R, Harris CA, Small C. B. et al. Oral candidiasis in high-risk as the initial manifestation of the acquired immunodeficiency syndrome. *N Eng J Med* 1984;311: 354-358.
49. Elias Costa MR, Carnovale S. and Relloso S. Oropharyngeal candidosis in AIDS patients: an epidemiological study using restriction analysis of *Candida albicans* total genomic DNA. *Mycoses*. 1999; 42:41-46.
50. Hauman C, Medsei B, Medsei M. et al. Oral carriage of *Candida* in healthy and HIV-seropositive persons. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1993;76: 570-572.
51. Korting HC, Ollert M, Georgii A. and Fröschl M. *In vitro* susceptibilities and biotypes of *Candida albicans* isolates from cavities of patients infected with human immunodeficiency virus. *J Clin Microbiol* 1988;26(12): 2626-2631.
52. Torssander J, Chryssanthou E. and Petrini B. Increased prevalence of oral *Candida albicans* serotype B in homosexual men: a comparative and longitudinal study in HIV-infected and HIV-negative patients. *Mycoses*. 1996;39: 353-356.
53. McCullough MJ, Ross BC, Dwyer BD and Reade PC. Genotype and phenotype of oral *Candida albicans* from patients infected with the human immunodeficiency virus. *Mycobiology*. 1994;140: 1195-1202.
54. McCuillough M. and Hume S. A longitudinal study of the change in resistance patterns and genetic relationship of oral *Candida albicans* from HIV- infected patients. *J Med Vet Mycol* 1995; 33:33-37.
55. Powderly WG, Robinson K and Keath EJ. Molecular epidemiology of recurrent oral candidiasis in human immunodeficiency virus-positive patients: evidence for two patterns of recurrence. *J Infect Dis* 1993;168: 463-466.

56. Millard HD. Oral manifestations of HIV infection and their management. I. More common lesions. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991;71:158-166.
57. Sangeorzan JA, Bradley SF, He X, Zarins L. et al. Epidemiology of oral candidiasis in HIV-infected patients: colonization, infection, treatment, and emergence of fluconazole resistance. *Am J Med* 1994;97:337-346.
58. Dupont B, Denning DW, Marriott D. et al. Mycoses in AIDS patients. *J Med Vet Mycol* 1994;32(S1):65-77.
59. Argüero-Licea B, Gasca MA. and Bonifaz A. Importancia de las infecciones producidas por *Candida sp* en pacientes con cáncer. *LAB-acta* 1999;11: 11-15.
60. Redding SW, Zellars RC, Kirkpatrick WR. Et al. Epidemiology of oropharyngeal *Candida* colonization and infection in patients receiving radiation for head and neck cancer. *J Clin Microbiol* 1999, 37(12):3896-3900.
61. Drew J. Winston, Pranatharthi H. and Buell DN. Fluconazole prophylaxis of fungal infections in patients with acute leukemia. *Annals of Internal Medicine* 1993;118, 495-503.
62. Carl William. Local radiation and systemic chemotherapy: preventing and managing the oral complications. *JADA* 1993; 124:119-122.
63. Denny MJ. and Partridge BM. Tetrazolium medium as an aid in the routine diagnosis of *Candida*. *J Clin Pathol* 1968; 21:383-386.
64. Franz R, Ruhnke M. and Morschhäuser J. Molecular aspects of fluconazole resistance development in *Candida albicans*. *Mycoses*. 1999; 42:453-458.
65. Redding S, Smith J, Farinacci G. et al. Resistance of *Candida albicans* to fluconazole during treatment of oropharyngeal candidiasis in a patient with AIDS: Documentation by *In Vitro* susceptibility testing and DNA subtype analysis. *Clin Infect Dis* 1994; 18:240-242.

66. Kibbles CC, Prentice HG. Actualidades en el manejo de las infecciones fúngicas en pacientes neutropénicos. *Enf Infec y Microbiol* 1999;19(1):31-44.
67. Goodman & Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. 9ª Edición Vol. II. McGraw-Hill Interamericana México. 1996, pp 1247-1256.