

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FACULTAD DE MEDICINA



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DELEGACIÓN NORTE DEL DISTRITO FEDERAL

HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA

DR. DANIEL MÉNDEZ HERNÁNDEZ

CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA

“Frecuencia y susceptibilidad in vitro de *Cándida albicans* en la bucoesofagitis de pacientes con VIH/SIDA”

TESIS QUE PRESENTA:

Dr. Roberto Quiroz Guzmán

PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA ESPECIALIDAD DE:

INFECTOLOGÍA DE ADULTOS

Asesor Principal. Dra. Verónica A. Gaona Flores

Coasesor: QBP. Rosa María Cervantes Tovar

Colaboradores: Dr. Enrique Alcalá Martínez

Dra. María Isabel Sandoval Arrieta





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.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE INFECTOLOGIA CENTRO MEDICO NACIONAL “LA RAZA”
IMSS

Paseo de las Jacarandas s/n Colonia La Raza, Delegación Azcapotzalco

CP 02990

**“Frecuencia y susceptibilidad in vitro de *Cándida albicans* en la
bucoesofagitis de pacientes con VIH/SIDA”**

Investigador principal y asesor de Tesis. Dra. Verónica A. Gaona Flores

Coordinador Clínico de Educación e Investigación en Salud

Médico Internista e Infectólogo

Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional “La Raza”

Coasesor:

QBP. Rosa María Cervantes Tovar

Colaboradores

Dr. Enrique Alcalá Martínez

Dra. María Isabel Sandoval Arrieta

DR. ÉLFEGO BAUTISTA CORTÉS
ENCARGADO DE LA COORDINACION DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN
SALUD
HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA DR DANIEL MÉNDEZ HERNÁNDEZ
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA

DRA. VERÓNICA ALEJANDRA GAONA FLORES
ASESOR PRINCIPAL
HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA DR DANIEL MÉNDEZ HERNÁNDEZ
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA

QBP. ROSA MARÍA CERVANTES TOVAR
JEFE DE LA SECCION DE MICOLOGÍA
CO-ASESOR DE TESIS
HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA DR DANIEL MÉNDEZ HERNÁNDEZ
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA

DR. ENRIQUE ALCALÁ MARTÍNEZ
MEDICO ADSCRITO AL SERVICIO DE EPIDEMIOLOGÍA
COLABORADOR
UMAE HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA DR DANIEL MÉNDEZ HERNÁNDEZ
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA

DRA. MARÍA ISABEL SANDOVAL ARRIETA
MEDICO ADSCRITO GASTROENTEROLOGA Y ENDOSCOPISTA
COLABORADORA
HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA DR DANIEL MÉNDEZ HERNÁNDEZ
CENTRO MÉDICO NACIONAL LA RAZA

IMSS REGISTRO NACIONAL DE TESIS DE ESPECIALIDAD

Delegación	NORTE	Unidad de Adscripción	Hospital de Infectología	CMN LA RAZA
Autor Apellido Paterno	Quiroz	Materno	Guzmán	Nombre Roberto
Matricula	99273483	Especialidad	Infectología de Adultos	
Fecha Grad.	28/02/2013	No. de Registro	R-2012-35021-2	

Título de la tesis:

Frecuencia y susceptibilidad *in vitro* de *Cándida albicans* en la bucoesofagitis de pacientes con VIH/SIDA

RESUMEN: Introducción: *Cándida albicans* es un hongo comensal que comúnmente habita en superficies mucosas de los seres humanos y que puede convertirse en un patógeno oportunista que causa infecciones recurrentes en condiciones de inmunodeficiencia. *Cándida albicans* es la especie aislada con más frecuencia en pacientes con Candidosis bucal o bucoesofágica, en VIH/SIDA. La resistencia clínica e *in vitro* a los antifúngicos azoles es frecuente en la Candidosis orofaríngea cuando las células CD4 se encuentran a menos de 200 células por milímetro cúbico de sangre, ya sea por selección o adquisición de cepas resistentes de *Cándida* de otras especies

Objetivos: Identificar la frecuencia de *Cándida albicans* y no *albicans* aislada de pacientes seropositivos al VIH con Candidosis bucal y/o bucoesofágica (CB-E) y la Identificación del patrón de susceptibilidad de las cepas de *Cándida sp.* aislada de pacientes seropositivos al VIH con Candidosis bucal y/o esofágica (CB-E). **Métodos:** Se incluyeron 96 pacientes con infección por el virus de la Inmunodeficiencia humana VIH/SIDA de junio del 2011 a Diciembre del 2012, con diagnóstico de VIH por serología ELISA y confirmado por Western Blot, que cumplieron con los criterios de selección. Se obtuvieron muestras de lesiones bucales por hisopado, cepillado esofágico con apoyo del servicio de Endoscopia, con envío a cultivo y servicio de Histopatología previo examen directo de las 2 muestras. Cada paciente tenía cultivo de aislado bucal y esofágico en algunos no hubo desarrollo, se tomaron basales de linfocitos CD4, y se anotó la presentación clínica bucal, además de informar la presentación esofágica según la clasificación de Kodosi. Se realizó estadística descriptiva, y posteriormente análisis bivariado cruzando información con el desarrollo de Candidosis bucal o esofágico. **Resultados:** Se analizaron 96 pacientes de los cuales 87 (90.6%) fueron del género masculino; 75 (78.1%) no tenía patología asociada aparente, 6 de ellos con hepatitis Viral. 5 pacientes recibieron algún tipo de antimicrobiano mientras se hizo la toma de la muestra. La presentación clínica bucal más frecuente fue la pseudomembranosa y el hallazgo endoscópico por escala de Kodosi fue de grado I 42(43.8%). Se identificó 87 cepas de *Cándida albicans* de aislados bucales vs 73 de aislados esofágicos, en cuanto a las *Cándidas No albicans* 3 y 10 respectivamente. Además de un aislamiento en ambas muestras de otro tipo de levadura identificado como *Criptococcus neoformans*. En *Cándida albicans*; el total de aislados bucales 87/90 fueron sensibles a fluconazol y 3/90 con resistencia intermedia a fluconazol en aislados esofágicos. **Conclusiones:** El aislamiento de patógeno fúngico más común sigue siendo *Cándida albicans*, seguido de *Cándida glabrata* y *C. parapsilopsis*. Con tendencia a desarrollar resistencia a los azoles.

Palabras Clave:

- 1) *Cándida albicans*
- 2) Candidosis bucoesofágica
- 3) VIH/SIDA
- 4) Inmunosupresión
- 5) resistencia fluconazol

Pags.53 Ilus. 6

Tipo de Investigación: Observacional, descriptivo, transversal.



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS
Unidad de Educación, Investigación y Políticas de Salud
Coordinación de Investigación en Salud

Dictamen de Autorizado

COMITÉ LOCAL DE INVESTIGACIÓN EN SALUD 35021
HOSPITAL DE INFECTOLOGÍA DR DANIEL MENDEZ HERNANDEZ CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA,
D.F. NORTE

FECHA 17/02/2012

DRA. VERÓNICA GAONA FLORES

P R E S E N T E

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título:

"Frecuencia, serotipos y susceptibilidad in vitro de *Cándida albicans* en la bucoesofagitis de pacientes con VIH/SIDA"

que usted sometió a consideración de este Comité Local de Investigación en Salud, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A U T O R I Z A D O**, con el número de registro institucional:

Núm. de Registro
R-2012-35021-2

ATENTAMENTE

DR. LUIS CARLOS BONILLA RIVERA

Presidente del Comité Local de Investigación en Salud núm 35021

LCBR

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

*Recibi
del 21/2012
[Signature]*

AGRADECIMIENTOS

A mis Padres, les agradezco por darme la vida e inculcarme valores invaluable y que con su apoyo y orientación fueron fundamentales para terminar un proyecto más en mi vida.

A mis hermanos y hermanas por el apoyo incondicional de cada uno de ellos.

A mi esposa Lourdes que encontré en este largo camino que es la Residencia, gracias por acompañarme, por tu paciencia, apoyo y por todo lo que me has enseñado. Y estar a mi lado...

A mi pequeña Valeria simplemente por tenerte, nos haces los Padres más felices del mundo.

Amigos de toda la vida, compañeros de la residencia les agradezco sus enseñanzas y buenos tiempos con todos ustedes.

Amigos, Profesores, Doctores mi más grande admiración y respeto por todo lo que me han enseñado en especial para la realización de este trabajo: Dra. Verónica Gaona Flores, Dra. María Isabel Sandoval Arrieta, QBP Rosa María Cervantes Tovar, Dr. Enrique Alcalá Martínez y por supuesto a Dra. Elena Urdez Hernández, Dra. Concepción Hernández García, Dr. Muslim Schabib Hanny, Dra. Mayte Martínez Velázquez, Dra. Claudia Vázquez Zamora, Dra. Gabriela Miralrío, Dr. Alberto Chaparro Sánchez, Dr. Eddie León Juárez, Dr. Juan Carlos Domínguez Hermosillo, Dr. Ricardo Figueroa Damián.

INDICE

	Pag.
Resumen	1
Antecedentes Científicos	2
Planteamiento del problema y Pregunta de Investigación	9
Justificación	10
Objetivos generales	11
Objetivos específicos	11
Material y Métodos	12
Diseño de la Investigación: Tipo de estudio	13
Variables	14
Recolección de la información	16
Análisis estadístico	17
Aspectos éticos	18
Resultados	19
Conclusiones	35
Discusión	37
Bibliografía	41

1.- Datos del Alumno

Quiroz
Guzmán
Roberto
(044) 55-13-45-13-03
Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad de Medicina
Matrícula: 99273483
Residente de 6to año de la especialidad de Infectología, Hospital de Infectología "Dr. Daniel Méndez Hernández". UMAE CMN La Raza.
Correo electrónico: dr.rqg@hotmail.com

2.- Datos del Asesor

Gaona

Flores Verónica Alejandra

Coordinación de Educación e Investigación en Salud. Hospital de Infectología "Dr. Daniel Méndez Hernández". UMAE CMN La Raza.
5526908770 veronica.gaona@imss.gob.mx

Cervantes

Tovar Rosa María

Jefa del Departamento de Micología del Hospital de Infectología "Dr. Daniel Méndez Hernández". UMAE CMN La Raza.
5535713962

Alcalá

Martínez Enrique

Adscrito al Departamento de Epidemiología del Hospital de Infectología "Dr. Daniel Méndez Hernández". UMAE CMN La Raza.
roldan79@hotmail.com

Sandoval

Arrieta María Isabel

Adscrito al Departamento Endoscopia del Hospital de Infectología "Dr. Daniel Méndez Hernández". UMAE CMN La Raza.
5538809710 marisaguascuaro@hotmail.com

3.- Datos de la tesis

Frecuencia y susceptibilidad *in vitro* de *Cándida albicans* en la bucoesofagitis de pacientes con VIH/SIDA

53 p.
2013

Frecuencia y susceptibilidad *in vitro* de *Cándida albicans* en la bucoesofagitis de pacientes con VIH/SIDA

RESUMEN

ALUMNO: Dr. Roberto Quiroz Guzmán residente del segundo año en Infectología de adultos del Hospital de Infectología Dr. Daniel Méndez Hernández Centro Médico Nacional La Raza (HI CMNR)

TUTORES:

Introducción: *Cándida albicans* es un hongo comensal que comúnmente habita en superficies mucosas de los seres humanos y que puede convertirse en un patógeno oportunista que causa infecciones recurrentes en condiciones de inmunodeficiencia. *Cándida albicans* es la especie aislada con más frecuencia en pacientes con Candidosis bucal o bucoesofágica, en VIH/SIDA. La resistencia clínica e *in vitro* a los antifúngicos azoles es frecuente en la Candidosis orofaríngea cuando las células CD4 se encuentran a menos de 200 células por milímetro cúbico de sangre, ya sea por selección o adquisición de cepas resistentes de *Cándida* de otras especies

Objetivos: Identificar la frecuencia de *Cándida albicans* y no *albicans* aislada de pacientes seropositivos al VIH con Candidosis bucal y/o bucoesofágica (CB-E) y la Identificación del patrón de susceptibilidad de las cepas de *Cándida sp.* aislada de pacientes seropositivos al VIH con Candidosis bucal y/o esofágica (CB-E).

Métodos: Se incluyeron 96 pacientes con infección por el virus de la Inmunodeficiencia humana VIH/SIDA de junio del 2011 a Diciembre del 2012, con diagnóstico de VIH por serología ELISA y confirmado por Western Blot, que cumplieron con los criterios de selección. Se obtuvieron muestras de lesiones bucales por hisopado, cepillado esofágico con apoyo del servicio de Endoscopia, con envío a cultivo y servicio de Histopatología previo examen directo de las 2 muestras. Cada paciente tenía cultivo de aislado bucal y esofágico en algunos no hubo desarrollo, se tomaron basales de linfocitos CD4, y se anotó la presentación clínica bucal, además de informar la presentación esofágica según la clasificación de Kodosi. Se realizó estadística descriptiva, y posteriormente análisis bivariado cruzando información con el desarrollo de Candidosis bucal o esofágico.

Resultados: Se analizaron 96 pacientes de los cuales 87 (90.6%) fueron del género masculino; 75 (78.1%) no tenía patología asociada aparente, 6 de ellos con hepatitis Viral. 5 pacientes recibieron algún tipo de antimicrobiano mientras se hizo la toma de la muestra. La presentación clínica bucal más frecuente fue la pseudomembranosa y el hallazgo endoscópico por escala de Kodosi fue de grado I 42(43.8%). Se identificó 87 cepas de *Cándida albicans* de aislados bucales vs 73 de aislados esofágicos, en cuanto a las *Cándidas No albicans* 3 y 10 respectivamente. Además de un aislamiento en ambas muestras de otro tipo de levadura identificado como *Criptococcus neoformans*. En *Cándida albicans*; el total de aislados bucales 87/90 fueron sensibles a fluconazol y 3/90 con resistencia intermedia a fluconazol en aislados esofágicos.

Conclusiones: El aislamiento de patógeno fúngico más común sigue siendo *Cándida albicans*, seguido de *Cándida glabrata* y *C. parapsilopsis*. Con tendencia a desarrollar resistencia a los azoles.

Introducción

En el grupo de pacientes con inmunocompromiso por infección de VIH, la disminución de la inmunidad de tipo celular, favorece la presencia de infecciones consideradas oportunistas, entre ellas las infecciones bucales por *Cándida sp*; se ha señalado que se presentan hasta en el 90% de los casos, al menos alguna vez a lo largo de la historia natural de la enfermedad (1).

La versatilidad en el potencial patogénico de esta especie de hongo es el resultado de su capacidad para adaptarse, evolucionar y evadir las defensas inmunitarias del huésped a través de la regulación de los factores determinantes de virulencia, de manera selectiva, bajo condiciones de predisposición (1).

Cándida albicans es un hongo comensal que comúnmente habita en superficies mucosas de los seres humanos y que puede convertirse en un patógeno oportunista que causa infecciones recurrentes en condiciones de inmunodeficiencia (2), desarrollándose la Candidosis orofaríngea (COF), que es la infección oportunista más frecuente en los pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana/Síndrome de Inmunodeficiencia Humana (2,3).

La resistencia clínica e in vitro a los antifúngicos azoles es frecuente en la Candidosis orofaríngea cuando las células CD4 se encuentran a menos de 200 células por milímetro cúbico de sangre, ya sea por selección o adquisición de cepas resistentes de *Cándida* de otras especies (3).

Es preocupante que todo el impacto potencial del tratamiento antirretroviral, tratamiento sobre la capacidad de reconstituir la inmunidad y, por lo tanto, a reducir la incidencia de la Candidosis orofaríngea (COF) y la Candidosis esofágica se han visto obstaculizados por la adhesión subóptima, la toxicidad y la resistencia a los antirretrovirales, así como la limitada disponibilidad de estos tratamientos en los países en vías de desarrollo en donde residen la mayoría de pacientes infectados por el VIH (3).

Entre las características patógenas más notables de *C. albicans* son la secreción de proteasas aspárticas, una familia de enzimas proteolíticas que se consideran vitales para su patogénesis, además de enzimas hidrolíticas (2,3), formación de hifas o pseudohifas (cambio fenotípico), modulación antigénica que lleva a la invasión tisular, y en definitiva a una preponderancia en las mismas. Estos factores de virulencia pueden variar, dependiendo del tipo, la fase y el sitio de la infección y la naturaleza de la respuesta inmune (4).

Aunque la incidencia de la infección por Candidosis orofaríngea (COF), en VIH se ha reducido desde la introducción de la terapia antirretroviral altamente activa (TARAA), siguen siendo una infección oportunista común en pacientes infectados por VIH (3,4).

Cándida albicans es la especie aislada con más frecuencia en pacientes con Candidosis orofaríngea (COF), en VIH/SIDA, sin embargo es importante el conocimiento de la especie implicada en el proceso infeccioso para su tratamiento y manejo específico. El conocimiento de las especies aisladas es imprescindible, para el tratamiento efectivo específico ya que algunas especies de esta levadura se conocen como intrínsecamente resistentes a antifúngicos, por ejemplo: *Cándida krusei* al fluconazol (4).

También *C. albicans* sigue siendo la más frecuentemente implicada en la Candidosis nosocomial, aislando otras especies de *Cándida* con mayor frecuencia en los pacientes tratados previamente con azoles (4).

En contraparte la acción del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), es la de debilitar el sistema inmunológico. La asociación entre el aumento de la replicación viral y una disminución de las defensas inmunitarias hace que estos pacientes “de riesgo” sean particularmente susceptibles a la Candidosis orofaríngea (COF); en la medida en que COF (muguet oral) se considera una fuerte indicación de inmunodeficiencia asociada a VIH (4).

En varios estudios realizados en diversos países se ha encontrado que *C. albicans* es seguido de diferentes órdenes de frecuencia por *C. tropicales*, *C. krusei*, *C. glabrata*, *C. pseudotropicalis*, *C. parapsilopsis*, *C. guilliermondii*, y otras especies (4-9).

El género *Cándida* está compuesto por un extenso y heterogéneo grupo de organismos que crecen en forma de levadura. La mayoría de los miembros de este género producen filamentos (pseudohifas); en cambio *C. albicans* y *C. dubliniensis* forman verdaderas hifas (tubos germinativos) y estructuras celulares con gruesas paredes llamadas clamidosporas (5)

Las enfermedades crónicas, que cursan con inmunosupresión como las de origen hematológicas, oncológicas, la infección por VIH/SIDA, los dismetabolismos, y el aumento paralelo de pacientes de alto riesgo, como los trasplantados, los que tienen neoplasias, los recién nacidos de bajo peso, los pacientes de edad avanzada, o a los que se les han practicado cirugías extensas y los hospitalizados en las unidades de cuidado intensivo (UCI), todas ellas han coincidido con un marcado incremento de las micosis invasoras, por diferentes agentes micóticos, entre ellos *Cándida sp.* En estos grupos, las infecciones predominan debido a que la mayoría de los pacientes reciben múltiples tratamientos con antibióticos de amplio espectro, esteroides, citotóxicos, inmunosupresores y requieren uso de catéteres intravasculares y procedimientos invasivos (6, 7, 8,9).

La infección por la Candidosis orofaríngea en el VIH ha sido clasificada clínicamente como: con presencia de pseudomembranas, variantes eritematosas y queilitis angular. La forma pseudomembranosa de Candidosis orofaríngea asociada a VIH se caracteriza por la presencia de lesiones papulares multifocales lisas de color blanco que ser frotadas dejan una superficie roja fácilmente reconocible. La forma eritematosa se presenta típicamente como múltiples focos

de eritema macular difuso en el paladar, orofarínge, mucosa bucal y zonas dorsales de la lengua, pero las hifas frecuentemente están ausentes (10).

La Candidosis bucal con frecuencia se complica con Candidosis esofágica, que puede limitar el consumo de alimentos y conducir a la pérdida de peso, una amenaza para la salud general y el bienestar de los pacientes infectados por el VIH (10).

Cándida albicans es una levadura oportunista que pueden causar graves infecciones invasivas, en especial en pacientes inmunocomprometidos, porque lo que desarrollo de metodologías para la identificación exacta de las cepas es esencial (11).

La cavidad bucal es uno de los primeros sitios de infección por *C. albicans*. Se ha propuesto que un potente péptido salival con propiedades anti cándida, Hst-5 desempeña un papel importante como protector ante la exposición de la mucosa oral a colonización por comensales de cepas de *C. albicans*. En individuos VIH positivos, los niveles de Hst-5 se encuentran significativamente disminuidos, concomitante con el aumento de la colonización puede proporcionar una estimación aproximada de la cuenta de células T CD4, en función de la terapia antirretroviral que puede ser ajustada si es necesario(12).

La extensión de una Candidosis orofaríngea puede ocasionar laringitis y esofagitis con disfagia. Esta última complicación es frecuente en lactantes y pacientes con trastornos linfoproliferativos además de VIH/SIDA (12).

Se ha encontrado que la forma pseudomembranosa es la presentación clínica más común de la Candidosis oral en adultos con VIH/SIDA, mientras que en los niños con VIH/SIDA con Candidosis oral presentan lesiones eritematosas (13,14).En ocasiones, también puede verse afectada la piel, sobre todo en los pacientes con Candidosis mucocutánea (13,14).

Su presencia es indiscutible como comensal en mucosa digestiva, genital y respiratoria y se ha aislado en hemocultivos de pacientes con catéteres intravasculares (15).

A pesar del uso elevado de los azoles, la resistencia a fluconazol en *C. albicans* sigue siendo poco común, y la frecuencia de aislamiento *C. krusei* resistente a los azoles es baja. La resistencia de *C. albicans* a fluconazol parece estar asociada con el tratamiento a largo plazo (16).

Desde el año 2008, el Subcomité de Pruebas antifúngicas del Instituto de Estándares Clínicos (*Clinical and Laboratory Standard Institute*), (CLSI) definió el punto de corte para los agentes activos contra los aislados de *Cándida especies*, la concentración mínima inhibitoria (MIC) menor de 8 µg/ml fue clasificada como sensible (S), aquellas iguales a 16 a 32 µg/ml consideradas sensibles dosis dependiente (S-DD) y las que tuviesen igual o mayor a 64 µg/ml son resistentes (17,18).

Visualizar por estudio Endoscópico según ésta escala de Kodsi para Candidosis esofágica la cual a continuación se presenta: **GRADO I** Algunas placas elevadas de hasta 2 mm, con hiperemia, sin edema, ni ulceración. **GRADO II** Múltiples placas elevadas, mayores de 2mm con hiperemia y edema, sin úlceras. **GRADO III.** Placas lineales y nodulares, elevadas y confluentes, con hiperemia y úlceras. **GRADO IV.** Grado III + friabilidad de la mucosa y puede estar asociado a estenosis lo cual permite visualizar las lesiones presuntivas de *Cándida sp*, que tiene importancia diagnóstica y a su vez, permite conformar al examen directo como un método útil para brindar un resultado preliminar rápido, confiable, además de ser sencillo y económico (19).

La elección de un agente antifúngico adecuado debe tener en cuenta varios factores, entre ellos la exposición previa a agentes antifúngicos y la correcta identificación de las especies. De las diferentes especies que pueden desarrollar la infección, encontramos que *Cándida albicans* comparte con *Cándida*

dublinsiensis muchos factores de virulencia, tales como la formación de tubo germinativo, la producción de exoenzimas y el cambio fenotípico (20,21),

Algunas especies oportunistas pueden tener una susceptibilidad reducida a determinados agentes antifúngicos. *C. glabrata* y *C. krusei* con frecuencia son resistentes al fluconazol. Estas especies pueden provocar infecciones en pacientes con inmunosupresión. Los azoles (fluconazol en particular) son considerados los fármacos de elección para el tratamiento de los pacientes con Candidosis oral relacionada con el VIH/SIDA (21), encontrándose un alto nivel de sensibilidad a fluconazol, itraconazol, miconazol, clotrimazol y anfotericina B en infecciones primarias, reduciéndose dicha sensibilidad con la Candidosis orofaríngea periódica y terapia antifúngica previa (22, 23). Por lo tanto, la correcta identificación de la levadura y de las especies asociadas con lesiones orales en pacientes con VIH/SIDA es muy importante para el correcto tratamiento de estos individuos (22).

La exposición prolongada a antifúngicos se destaca como la principal causa de aparición de resistencia a los azoles (22,23).

Cándida albicans desarrolla fácilmente resistencia a fluconazol. (22, 23, 24). La Resistencia a Fluconazol en *Cándida albicans* puede ocurrir a través de dos vías. Acumulación reducida de Fluconazol o la alteración en el sitio diana, a través de la 14 alfaesterol demetilasa, codificada por el gen ERG16. Otros mecanismos son la inactivación de la droga, y la presencia del gen ERG16mRNA por sobreexpresión de éste (25); genes asociados con la bomba de eflujo, como el gen BENrgen (26), y los que codifica como proteína del principal facilitador de la familia de los transportadores (27). Las cepas de especies de *Cándida* que exhiben resistencia a fluconazol, no son resistentes a voriconazol; éste por lo tanto, debido a su amplia cobertura, poder ser utilizado en el tratamiento de casos de Candidemia causada por cepas de *C. krusei* resistentes a fluconazol (26,27).

Entre las características de éstos microorganismos está formar biofilm, el cual contribuye en forma muy importante a favorecer la resistencia antifúngica (28, 29,30). El biofilm maduro consiste en una densa red de levaduras, hifas y pseudohifas, con frecuencia en asociación con bacterias. La consecuencia clínica del crecimiento del biofilm es el desarrollo de resistencia a antifúngicos convencionales. Las progresivas alteraciones en los mecanismos de resistencia como la modificación en la permeabilidad de la droga manifiesta resistencia cruzada a diferentes antifúngicos. Las evidencias sugieren que el mecanismo común es la acumulación reducida de fluconazol (31).

Es fácilmente identificable que es multifactorial la resistencia de fluconazol a *C albicans*, tales como las mutaciones en Erg11, la sobre expresión de los genes transportadores del eflujo de la droga como Cdr1, Cdr2 y Mdr1, en otros casos la naturaleza dinámica de la enzima demetilasa, favorece numerosas mutaciones que pueden conferir niveles diferente de resistencia a fluconazol (32, 33,34).

Los productos génicos como el del IFF4, que promueven la adhesión (37,38). Glicolípidos glicofosfatidilinositol de la superficie celular involucrados en su patogenicidad (38). Algunas cepas son capaces de invadir varios lugares del cuerpo, micro evolucionando y éstos pueden producirse como una respuesta adaptativa a los nuevos entornos (39).

El desarrollo de metodologías para la discriminación exacta de las cepas es esencial. El conocimiento de la relación de las cepas implicadas en las infecciones sería de extrema importancia para el desarrollo y la aplicación de la correcta estrategia terapéutica, así como la obtención de una mejor comprensión de la Epidemiología de esta levadura (39).

Planteamiento del problema:

El estado de inmunocompromiso consecuente del SIDA, hace susceptible al paciente de infecciones recurrentes de tipo fúngico, en especial de Candidosis bucal o bucoesofágica, con alteraciones funcionales en el paciente, en forma local en boca o incluso dificultad para la deglución con los procesos relacionado a ello. Debido a que se trata de infección recurrente, favorece la resistencia a antifúngicos así como existe la interacción farmacológica, con reducción sérica de azoles y mala respuesta clínica al tratamiento establecido. Existen varios antifúngicos para el tratamiento, sin embargo, es importante, priorizar el tratamiento con base en la epidemiología local, que el clínico debe conocer para la adecuada selección terapéutica y disminuir así el problema de resistencia a azoles. Debido a lo anterior, planteamos las siguientes preguntas.

Planteamiento de la pregunta

¿Cuál es la distribución de especies de *Cándida* en pacientes con VIH/SIDA y Candidosis bucoesofágica?

¿Cuál es el patrón de susceptibilidad a los principales antifúngicos de las especies de *Cándida* sp aisladas de pacientes con VIH/SIDA con Candidosis bucoesofágica?

Justificación

La Candidosis bucoesofágica es un proceso patológico directamente relacionado con la ineficaz respuesta inmunológica, condicionados por diversos padecimientos de base, uno de los más importantes la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), que actualmente es uno de los problemas de salud pública más importantes.

La etiología más frecuente de las Candidosis bucoesofágica, es la infección por *Cándida albicans*, que provoca reinfecciones frecuentes, siendo multitratada con antifúngicos diversos que condicionan en la mayor parte de los casos resistencia a los mismos. Es necesario conocer la frecuencia del género y especie, existentes en nuestra población, y la susceptibilidad in vitro que presentan a los antifúngicos que más frecuentemente se utilizan para su tratamiento, lo cual permitirá además de conocer la epidemiología hospitalaria de *Cándida sp.* Información sobre características genotípicas.

Objetivos generales:

- ❖ Identificar la frecuencia de *Cándida albicans* y no *albicans* aislada de pacientes con VIH/SIDA con Candidosis bucal y/o bucoesofágica (CB-E).

Objetivos específicos:

- ❖ Conocer el patrón de susceptibilidad de *Cándida albicans* a fluconazol, de las cepas aisladas de pacientes con Candidosis bucoesofágica y VIH/SIDA

Material y métodos

Universo de trabajo:

Pacientes adultos portadores de VIH/SIDA

Población blanco:

Pacientes adultos con diagnóstico de VIH/SIDA, que acudan a la consulta externa y/ o que se encuentren internados en el Hospital de Infectología del Centro Médico Nacional “La Raza”

Durante los meses de julio del 2011 a Noviembre 2012 y que cumplan los criterios de inclusión.

Selección de la muestra:

Muestreo no probabilístico, consecutivo y de conveniencia.

Criterios de selección

Criterios de inclusión:

1. Pacientes con diagnóstico con VIH/SIDA
2. Con datos clínicos de estomatitis por *Cándida*.
3. Con sintomatología compatible con esofagitis por *Cándida*.
4. Consentimiento informado por parte del paciente para participar en el estudio.
5. Aceptación del paciente para ser sometido a Endoscopia gastrointestinal alta

Criterios de no inclusión:

1. Pacientes con alguna de las siguientes patologías:
2. Insuficiencia respiratoria severa (pO₂ menor de 40 mm de Hg)
3. Patología nasal obstructiva (tumoraciones en vestíbulo nasal, estenosis nasales postquirúrgicas)
4. Hematemesis masiva
5. Trombocitopenia menor de 50 000 plaquetas
6. Tiempo de protrombina mayor de 5 segundos con respecto al control
7. Incapacidad para colaborar con la toma de muestras del estudio.

Criterios de eliminación:

Pérdida de cualquiera de los tipos de información:

- a) Clínica
- b) Micológica
- c) Histológica

Tipo de estudio

Por el control de la maniobra experimental: OBSERVACIONAL

Por la medición del fenómeno en el tiempo: TRANSVERSAL

Por la presencia de un grupo control: DESCRIPTIVO.

Por la dirección del análisis: PROSPECTIVO

Por la captación de la información: PROLECTIVO

Descripción de variables

Variables independientes

Estomatitis por *Cándida*

Candidosis orofaríngea

Definición conceptual: lesiones en placas blancas de bases eritematosa, inflamadas o sangrantes presentes en cavidad oral y faringoesofágica y/ o lesiones de tipo fisuras o eritema en las comisuras bucales.

Definición operacional: presencia de levaduras y pseudomicelio observada en estudios en fresco

Crecimiento de colonias sugestivas de *Cándida sp* en medio Sabourad y Cromogénico chromID *Cándida* de Biomérieux

Tipo de variable: cualitativa.

Escala de medición: ordinal.

Candidosis esofágica:

Definición conceptual: lesiones en placas blancas de bases eritematosa, inflamadas o sangrantes p y/ o lesiones de tipo fisuras o eritema lo largo del esófago.

Definición operacional: presencia de levaduras y pseudomicelio observada en estudios en fresco

Crecimiento de colonias sugestivas de *Cándida sp* en medio Sabourad y Cromogénico chromID *Cándida* de Biomérieux

Tipo de variable: cualitativa.

Escala de medición: ordinal.

Variable dependiente:

Sensibilidad al fluconazol.

Definición conceptual: pruebas de susceptibilidad a agentes antifúngicos, realizadas a los cultivos del microorganismo.

Definición operacional: pruebas de sensibilidad de los cultivos de *Cándida* con el Vitek II.

Tipo de variable: cualitativa.

Escala de medición: nominal politómica.

Metodología

Obtención de la muestra.

- BUCAL: DE LAS LESIONES SUGESTIVAS DE CANDIDOSIS bucal (placas blancas, áreas hiperplásicas, eritematosas o atróficas y queilitis) se obtendrá un raspado con hisopo de algodón estéril, y se introducirá en un tubo estéril con 3 ml de solución salina 0.9% para de inmediato trasladarlo al laboratorio.
- Hisopo, rotación en las lesiones, y enviado en tubo estéril con tapa de rosca, para identificación de pseudomicelio/ blastoconidios en examen directo.

Siembra en medio Sabourad, y medio Cromogénico chromID Cándida de Biomérieiux

- Identificación y susceptibilidad a través del sistema Vitek II versión 05.06; con tarjetas YST, con actualización de MIC al 28 de mayo del 2011 por los criterios de CLSI y con cepas de *referencia: Cándida albicans* ATCC 10231, *Cándida parapsilosis* ATCC 22019, *Cándida krusei* ATCC 6258, *Cándida glabrata* ATCC MYA 2950.

Esofágico: con 12 horas de ayuno previo, a cada paciente con diagnóstico de VIH/SIDA y evidencia clínica de Candidosis bucal con y sin sintomatología esofágica, se realizara endoscopia gastrointestinal alta.

- Toma de muestras de lesiones esofágicas mediante cepillado al menos 5 rotaciones, enviado en tubo estéril con 5 ml de solución salina.
- Hisopo, rotación en las lesiones, y enviado en tubo estéril con tapa de rosca, para identificación de pseudomicelio/ clamidioconidios en examen directo.

Siembra en medio Sabourad, y medio cromogénico chromID Cándida de Biomérieiux

- Identificación y susceptibilidad a través del sistema Vitek II versión 05.06; con tarjetas YST, con actualización del MIC al 28 de mayo del 2010 por los criterios de CLSI y con cepa de referencia: *Cándida albicans* ATCC 10231, *Cándida parapsilosis* ATCC 22019, *Cándida krusei* ATCC 6258, *Cándida glabrata* ATCC MYA 2950.
- Toma de cepillado de lesiones, y envío a cultivo en medio Sabouraud y medio cromogénico chromID *Cándida* de Biomérieux
- Identificación del grado de severidad según la clasificación de Kodsi, y hallazgos endoscópicos.

Análisis estadístico:

Forma en que se describirán los datos:

Las variables se describirán como continuas de razón y cualitativas nominales.

Las pruebas estadísticas a utilizar serán:

Análisis descriptivo: frecuencias simples, proporciones, medidas de tendencia central y de dispersión.

Análisis bivariado: Se calcularán razones de momios de prevalencia con intervalos de confianza al 95% y como pruebas de asociación Ji^2 y valor de $p < 0.05$; previo análisis de la distribución de la población, se aplicará U de Mann Whitney para aquellas variables con distribución no normal y t de Student para las variables con distribución normal plasmado mediante valor de p.

Aspectos éticos

El presente protocolo se apegó a los lineamientos generales de la ley general de salud en materia de investigación para la salud, normatividad institucional, y es acorde a la declaración de Helsinki, y sus enmiendas con el código de Núremberg y el informe de Belmont.

Recursos financieros y factibilidad:

Se realizó con recursos materiales, técnicos y humanos altamente calificados, propios del hospital, presupuestados dentro de sus auxiliares de diagnóstico del laboratorio de Micología, se trata de estudios que no implica modificaciones en la operatividad del mismo.

Resultados:

Se pudo identificar una relación de 6:1 hombre mujer, no concordante con la epidemiología nacional de infección por VIH según reporte de CENSIDA 2012. Con respecto a la edad se encontró que el paciente más joven tuvo 17 años, y el de mayor edad 63 años, la media de edad fue de 35 años, con desviación estándar (DS) de 9.2. Ver tabla 1.

La cuenta de linfocitos CD4+ estuvo en un intervalo de 9 a 82 células /mm³, con una media de 29 células CD4+ y DS de 14.07. Ver tabla 1.

Tabla 1. Características de los pacientes con VIH/SIDA y Candidosis bucoesofágica				
	Mínimo	Máximo	Media años	DS
Edad	17 años	63 años	35,26	9,2
CD4+	9 células	82 células	29,26	14,07
Sexo				
	número		%	
Femenino	9		9.4	
Masculino	87		90.6	
Tiempo de diagnóstico de VIH				
Menos de un mes	90		93,8	
1 a 6 Meses	1		1,0	
6 Meses a 1 Año	5		5,2	

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Del total de pacientes más del 90% tenían menos de un mes de diagnóstico de infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y por condiciones clínicas y CD4+ en etapa de SIDA; la mayoría fueron enviados de un hospital de segundo nivel. Ver tabla 1.

Tabla2. Características Demográficas y Comorbilidad		
Característica	núm.	%
Antimicrobianos previos a toma de especímenes para el diagnóstico de Candidosis		
si	5	5.2
no	91	94.8
Tratamiento ARV		
sin ARV	96	100
con ARV	0	0
VIH/SIDA y Comorbilidad		
Sin patología asociada aparente	75	78,1
Hepatitis viral B-C	6	6.3
Sífilis latente	2	2.1
Neumocistosis pulmonar	4	4.2
Tuberculosis diseminada	3	3.1
Neoplasias Enfermedad de Hodgkin	5	5.2
Encefalitis por <i>Toxoplasma gondii</i>	1	1.0

Fuente: Hoja de recolección de datos.

En los pacientes estudiados con diagnóstico de VIH/SIDA, se encontró mayor frecuencia de pacientes sin sintomatología agregada aparente, en segundo lugar los pacientes co-infectados con Virus de Hepatitis B y Virus de Hepatitis C que fueron 4 y 2 casos respectivamente; el caso de neoplasia fue confirmado con diagnóstico histopatológico. Ver tabla 2

Solamente 5/96, (5.2%) de los pacientes tomaban algún tipo de antimicrobiano,

1/5 tomó fluconazol como profilaxis primaria. 1/5 tratamiento con Ceftriaxona, 2/5 con tratamiento antituberculosis y 1/5 recibió tratamiento combinado de Clindamicina+Pirimetamina. Ninguno de los pacientes estudiados, había iniciado tratamiento antirretroviral. Ver tabla 2

Respecto a los hallazgos endoscópicos la presencia de lesiones mínimas predominó. En 4/96 (4.2%) de los pacientes se identificó el estadio IV de la clasificación de Kodsi, interpretado como abundantes lesiones y fácil sangrado de mucosa esofágica. Ver tabla 3

Tabla 3. Sintomatología buco esofágica y reportes de endoscopia					
Síntomas de boca y esófago			Hallazgos endoscópicos		
	núm.	%		núm.	%
Asintomático	15	15,6	Sin hallazgos/ sin muestra	7	7,3
Dolor/Sensación de ardor	79	53,1	KODSI - I	42	43,8
Disfagia/Odinofagia	18	1,0	KODSI - II	31	32,3
Náusea y Vómito	5	1,0	KODSI - III	12	12,5
Dolor retroesternal	6	70,8	KODSI - IV	4	4,2
Sialorrea	8	29,2			
Total de eventos (sintomatología, combinada)	131	100			

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Los pacientes manifestaron como síntoma más frecuente dolor-ardor y dificultad a la deglución, manifestada como odinofagia y disfagia; síntomas sugestivos de esofagitis. Debido a la incapacidad para la deglución, los pacientes prefieren no hacerlo y escupen con frecuencia, fue identificado en 8 casos. Ver tabla 3

Respecto a la presentación clínica bucal, el mayor número de casos fue la clasificada como Candidosis pseudomembranosa, en pocos casos (6.3%) se identificó en forma mixta. Ver tabla 4

De los especímenes tomados al examen directo se observó mayor frecuencia de levaduras en gemación y la presencia de pseudomicelio, en otros casos sólo levaduras y, en menor frecuencia, blastoconidios. Ver tabla 4

En los aislados fúngicos de origen bucal y esofágico, encontramos que *Cándida albicans* tuvo la mayor frecuencia de ellos; del género *Cándida no albicans* solo se aislaron 2 especies: *Cándida glabrata* y *Cándida parapsilopsis*. Fue también identificada otra levadura, *Criptococcus neoformans*, con localización buco esofágica; a este paciente se le realizó interrogatorio dirigido y exploración clínica sin identificar infección fúngica en otro sitio, aun así le fue realizada punción lumbar con exámen citoquímico en rangos normales, tinta china negativa; el líquido cefalorraquídeo se cultivó para hongos, el cual, estuvo sin desarrollo. Ver tabla 4

La susceptibilidad de *Cándida albicans* a fluconazol de origen bucal o esofágica se encontró alrededor de 90%, solo los que presentaron sensibilidad intermedia o a Dosis Respuesta, fueron los aislados de *Cándida no albicans*. Ninguno reportado como resistente. Ver tabla 4

De un paciente se aislaron dos especies diferentes uno de boca y otro de esófago, con sensibilidad en un caso intermedia y en el otro sensible. Ver tabla 4

Tabla4. Características de los aislados bucales y fúngicos

PRESENTACIÓN CLÍNICA BUCAL			EXÁMEN DIRECTO DE LESIONES BUCALES SUGESTIVAS DE CANDIDOSIS			IDENTIFICACIÓN DE GÉNERO Y ESPECIE DEL AISLADO FÚNGICO BUCAL			IDENTIFICACIÓN DE GÉNERO Y ESPECIE DE AISLADO FUNGICO ESOFÁGICO			SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICOTICOS POR SISTEMA VYTEK DE LOS AISLADOS BUCALES			SUSCEPTIBILIDAD A ANTIMICÓTICO POR SISTEMA VYTEK DE AISLADOS ESFÁGICOS		
	núm.	%		núm.	%		núm.	%		núm.	%		núm.	%		núm.	%
Pseudomembranosa	90	93,8	No se observaron estructuras fúngicas	2	2,1	Sin Desarrollo	5	6.2	Sin Desarrollo/Otro	15	15.6	Susceptibilidad Intermedia	4	4,2	Intermedio a Fluconazol	9	9,4
						<i>Criptococcus neoformans</i>	1		<i>Cándida albicans</i>	72	75	Sensible	91	94,8	Sensible	87	90,6
Pseudomembranosa/ Atrófica	4	4,2	Levaduras	35	36,5	<i>Cándida albicans</i>	87	90.6	<i>Cándida No albicans</i>	9	9.3	*Sensible/ Intermedio a Fluconazol (Dos aislados de diferentes géneros)	1	1,0			
Pseudomembranosa/ Eritematosa	2	2,1	Levadura/Pseudomicelio	39	40,6	<i>Cándida No albicans</i>	3	3.1	<i>Cándida glabrata</i> <i>Cándida parapsilosis</i>	5 4							
			Blastoconidios/ Seudomicelio	8	8,3	<i>Cándida glabrata</i>	2										
			Levaduras/Blastoconidios	12	12,5	<i>Cándida parapsilosis</i>	1										

Fuente: Hoja de recolección de datos.

Sensibilidad a Fluconazol de las cepas aisladas de boca

Tabla 5. Reportes de Sensibilidad a fluconazol de aislados de cavidad bucal

Especies (N) porcentaje	Sensible		Intermedio (S-DR)**		Resistente	
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
Sin desarrollo 5/96 (5.20%)	-	-	-	-	-	-
Cándida albicans 90/96 (77%)	87	96.6%	3	3.3%	0	0.0%
Cándida glabrata 2/96 (2.1%)	0	0.0%	2	100.0%	0	0.0%
Cándida parapsilosis 1/96 (1.07%)	0	0.0%	1	100.0%	0	0.0%
Total 96*						

Fuente: Hoja de recolección de datos.

* 2 pacientes tuvieron aislamientos dobles. (Cándida albicans+ Cándida glabrata y Cándida albicans+ Cándida parapsilosis) 96 pacientes, 5 no tuvieron desarrollo, 91 muestras, pero en 2 de los pacientes tuvieron 2 desarrollos de especies diferentes en total 93 aislamientos.

** Susceptibilidad dosis-respuesta

Fueron 87/90 los aislamientos de *Cándida albicans*, sensibles a fluconazol, 3/90 tuvieron sensibilidad intermedia al mismo, de estos pacientes: Uno tuvo profilaxis con fluconazol. Dos pacientes tuvieron la presencia de dos cepas de *Cándida* y especie diferente. *Cándida albicans* más *Cándida glabrata* y el otro caso, *Cándida albicans* más *Cándida parapsilosis*. Ningún aislado resistente. En cuanto a los aislados de *Cándida no albicans* los 3 se identificaron con resistencias intermedias o sensibles a dosis respuesta. En 5 casos, no hubo desarrollo; probablemente relacionado con el tamaño del inóculo al tomar el espécimen. Ver tabla 5

Sensibilidad a Fluconazol de las cepas aisladas de esófago

Tabla 6. Reportes de Sensibilidad a fluconazol de aislados de cavidad bucal

Especies (n)	Sensible		Intermedio		Resistente	
	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje	Número	Porcentaje
Sin desarrollo/ sin muestra 14/96 (14.58 %)	0	0.0%	0	0.0%	0	0.0%
<i>Cándida albicans</i> 73/96 (87.95%)	69	94.5%	4	5.47%	0	0.0%
<i>Cándida glabrata</i> 6/96 (7.22%)	2	33.33%	4	66.66%	0	0.0%
<i>Cándida parapsilosis</i> 4/96 (4.81%)	1	25%	3	75%	0	0.0%
Total de aislamientos (83) * 100 %						

Fuente: Hoja de recolección de datos.

* 2 de los pacientes tuvieron aislamientos dobles (*Cándida albicans* + *Cándida glabrata*)

En esófago 69/73 aislados de *Cándida albicans*, fueron sensibles a fluconazol y menos del 6% tuvieron sensibilidad intermedia al azol. Conviene destacar que 2/6 cepas, dos de *C. glabrata* resultaron sensibles a fluconazol, se ha informado que ésta especie ha mostrado resistencia intrínseca in vitro y adquirida en un alto porcentaje in vivo. En el caso de *C. parapsilosis* 3/4 aislados expresaron sensibilidad intermedia o a dosis respuesta. Ver tabla 6

Candidosis bucal. Análisis Bivariado

Tabla 7. Análisis Bivariado de factores de riesgo para Candidosis oral

Variable	Razón de Momios de Prevalencia (RMP)	Intervalo de Confianza 95%	X ²	P
Género				
Femenino	1	-	-	-
Masculino	0.30	0.05-1.76	1.92	0.19
Uso de antimicrobianos				
Si	1	-	-	-
No	1.11	1.03-1.18	0.54	0.60
Susceptibilidad				
Intermedio	1	-	-	-
Sensible	0.14	0.02-0.74	6.70	0.03
Linfocitos CD4				
Menos de 50	1	-	-	-
51 a 100	5.9	0.91-38.25	4.32	0.09
Tiempo de Diagnóstico VIH				
Menos de 1 mes	1	-	-	-
Más de 1 mes	5.92	0.91-38.25	4.32	0.09
Grupos de edad				
17 a 29 Años	1	-	-	-
30 a 39 Años	1.12	0.19-6.60	0.89	0.63
40 a 49 Años	1.43	0.18-11.2	0.72	0.56
Igual o Mayor de 50 Años	1.64	0.12-20.9	0.70	0.57

Fuente: Hoja de recolección de datos.

El análisis de este estudio reveló: Los pacientes con linfocitos CD4+ entre 51 a 100 células/mm³ incrementó el riesgo casi 6 veces el desarrollo de esta patología, sin identificar poder estadístico.

Con relación al tiempo de diagnóstico de infección por VIH de más de 1 mes y no haber recibido tratamiento antirretroviral, incrementó casi 6 veces el riesgo de desarrollo de *Candidosis* bucal, para una p mayor de 0.05, No significativa, con intervalo de confianza del 95%. Ver tabla 7

En los pacientes con más de 50 años éste fue un factor de riesgo para el desarrollo de *Candidosis* bucal, con riesgo de 1.5 veces más que el resto de los grupos, con IC de 95% y una p de 0.57 No significativa. Ver tabla 7

En relación a *Candidosis* esofágica, el análisis Bivariado, mostró que: El tener diagnóstico por infección de VIH más de un mes incrementó el riesgo hasta 1.5 veces de desarrollar *Candidosis* esofágica para un IC del 95% (0.26-9.02) con p mayor del 0.05. Ver tabla 8.

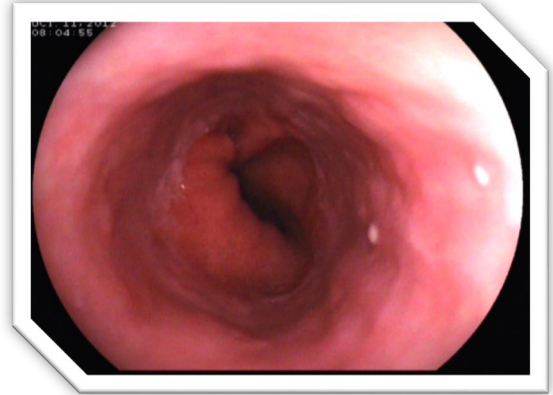
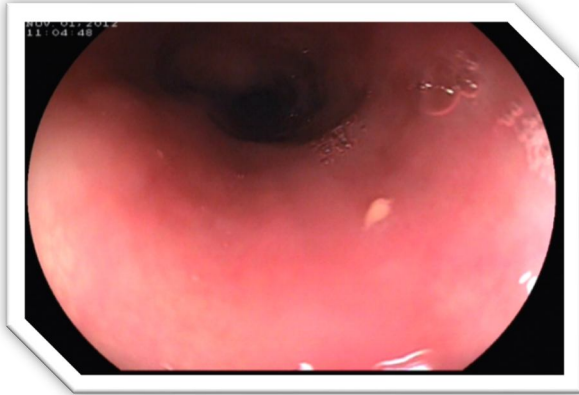
La edad de 30 a 39 años se identificó como un factor de riesgo de 1.6 veces más, para el desarrollo de *Candidosis* esofágica que en otros grupos de edad de esta muestra. Ver tabla 8

Tabla 8. Análisis Bivariado de factores de riesgo para Candidosis esofágica

Variable	Razón de Momios de Prevalencia (RMP)	Intervalo de Confianza 95%	X ²	p
Género				
Femenino	1	-	-	-
Masculino	1.18	0.22-6.1	0.04	0.60
Uso de antimicrobianos				
si	1	-	-	-
no	1.35	0.14-12.7	0.70	0.63
Susceptibilidad Intermedio sensible				
Intermedio	1	-	-	-
sensible	0.06	0.01-0.36	14.7	0.001
Linfocitos CD4				
Menos de 50	1	-	-	-
51 a 100	0.73	0.64-0.83	2.13	0.16
Tiempo de Dx de VIH				
Menos de 1 mes	1	-	-	-
Más de 1 mes	1.54	0.26-9.02	0.23	0.46
Hallazgos por Endoscopia				
Sin hallazgos	1	-	-	-
Kodsi I	0.05	0.005-0.48	0.001	0.003
Kodsi II	0.02	0.002-0.26	0.0001	Menor 0.05
Kodsi III	0.05	0.004-0.66	0.01	0.01
Kodsi IV	0.05	0.002-1.23	0.04	0.08
Grupos de edad				
17 a 29 Años	1	-	-	-
30 a 39 Años	1.62	0.50-5.25	0.41	0.30
40 a 49 Años	1.14	0.25-5.02	0.85	0.57
Igual o Mayor de 50 Años	1.33	0.20-8.70	0.76	0.55

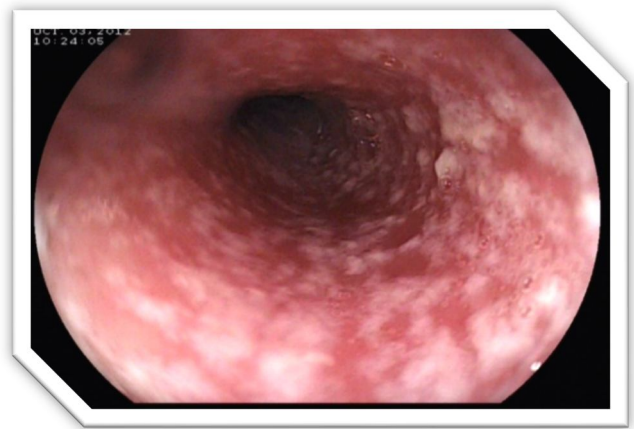
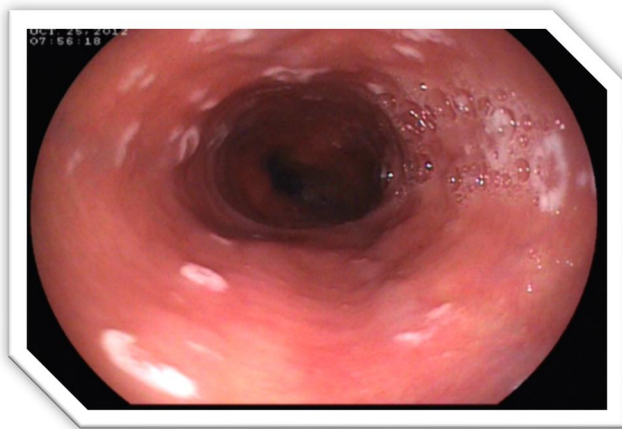
Fuente: Hoja de recolección de datos.

Imágenes del estudio Endoscópico: Realizados durante esta investigación, Cortesía Dra. Sandoval



Fuente: Servicio de Endoscopia HICMNR. Fujinon 2500.

Imagen 1 y 2. Pacientes con Candidosis esofágica Kodsi I.
Algunas placas elevadas menores a 2 mm, hiperemia leve, ni ulceraciones.



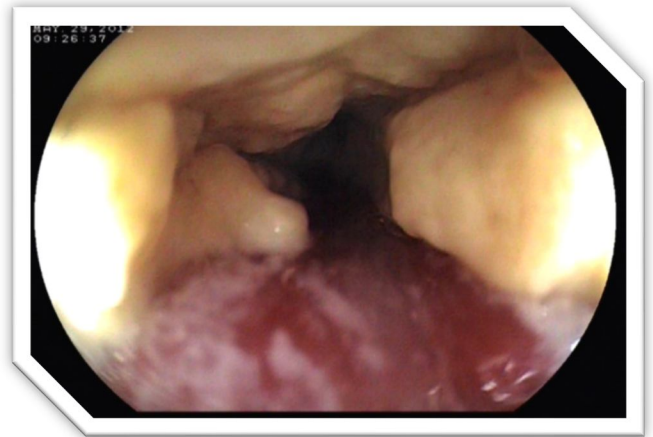
Fuente: Servicio de Endoscopia HICMNR.Fujinon2500

Imagen 3 y 4. Paciente número 35. Candidosis esofágica Kodsi II
Múltiples placas elevadas mayores a 2 mm. Hiperemia, edema, sin ulceraciones.



Fuente: Servicio de Endoscopia HICMNR. Fujinon 2500

Imagen 5. Paciente número 21. Candidosis esofágica Kodsi III
Placas nodulares, mayores a 2 mm. Edema, hiperemia.



Fuente: Servicio de Endoscopia HICMNR. Fujinon 2500

Imagen 6 y 7. Paciente número 10. Candidosis esofágica Kodsi IV
Placas nodulares, hiperemia, mayores a 2mm, causan estenosis esofágica, por debajo de éstas lesiones con friabilidad de mucosa y sangrado fácil.

Imagen 8. Secuelas de Candidosis en paladar
Lesión ulcerada mayor a 2mm, hiperemia, y sangrado fácil.

Fuente: Servicio de Endoscopia HICMNR. Fujinon 2500



Imagen 9. Candidosis en paladar
Lesiones blanquecinas, formando placas, mayores a 2mm, que cubren más del 50 % del paladar.

Fuente: Servicio de Endoscopia HICMNR. Fujinon 2500



Imagen 10. Candidosis en carrillos. Lesiones ulceradas y lesiones blanquecinas menores a 2mm.

Fuente: Servicio de Endoscopia HICMNR. Fujinon 2500



Fotografías de los aislados en medio cromogénico: Realizados durante esta investigación, Cortesía QBP Rosa María Cervantes Tovar.

Imagen 11.

Colonias de *Cándida albicans* en medio cromogénico (chromID Cándida de Biomérieux)

Fuente: Laboratorio de Micología. HICMNR

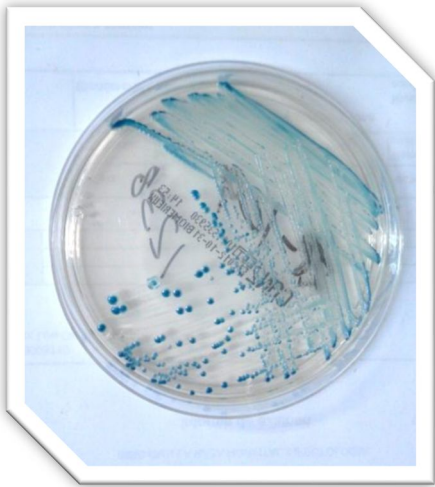


Imagen 12. Colonias de *Cándida no albicans* en medio cromogénico (chromID Cándida de Biomérieux)

Fuente: Laboratorio de Micología. HICMNR



Imagen 13. Colonias de *Cándida albicans* y *no albicans* en paciente número 3.

Fuente: Laboratorio de Micología. HICMNR



Imagen 14. Examen directo de lesiones en cavidad bucal. Presencia de Blastoconidios
Fuente: Laboratorio de Micología. HICMNR

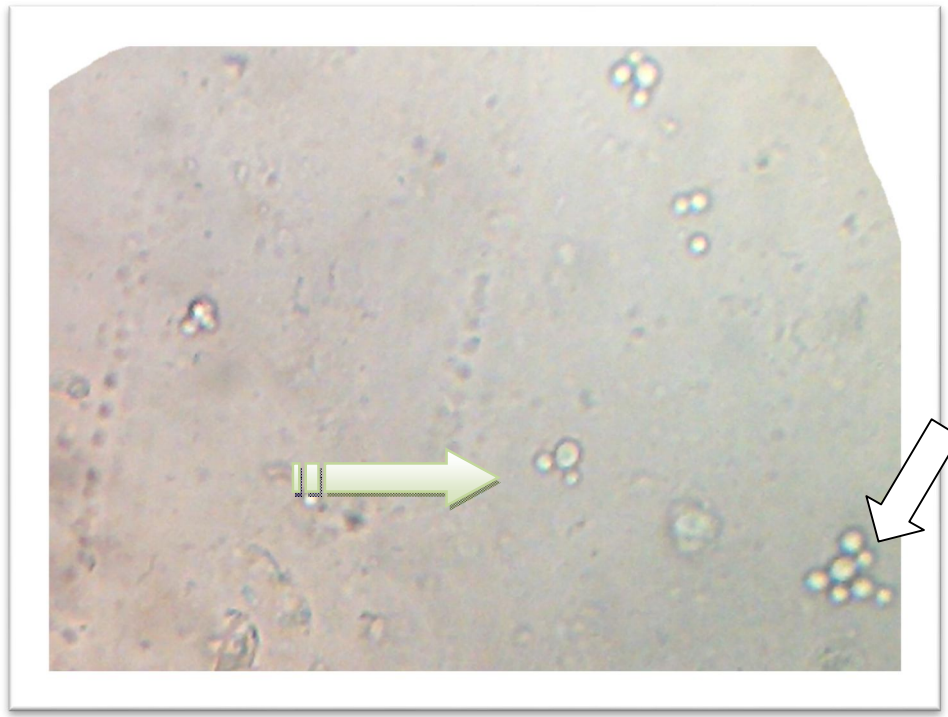


Imagen 15. Examen directo con presencia de pseudomicelio
Fuente: Laboratorio de Micología. HICMNR

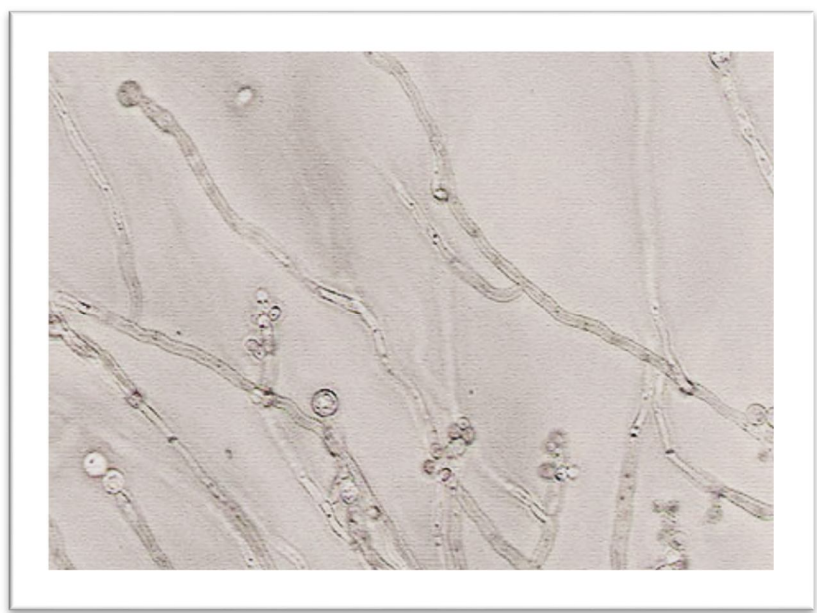
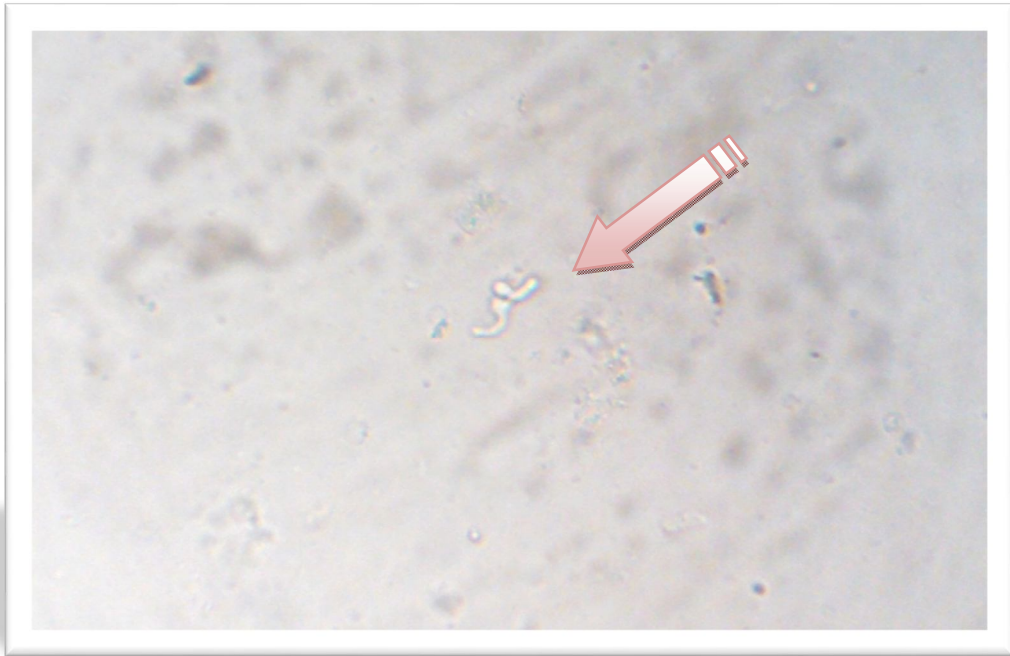
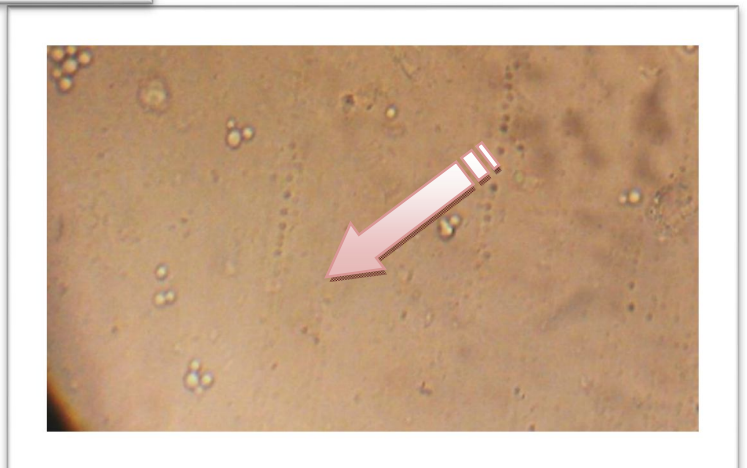
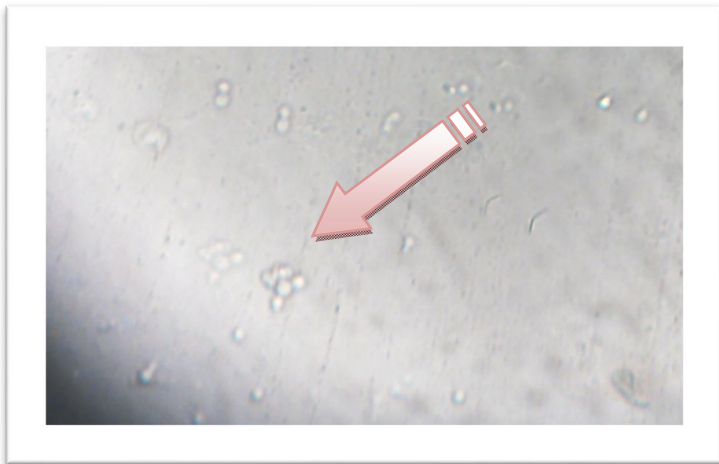


Imagen 15 Bis. Levaduras con inicio de formación pseudomicelio.



Imágenes 16 y 17. Examen directo. Cepillado esofágico. Abundantes levaduras/ blastoconidios.

Fuente: Laboratorio de Micología.
HICMNR



Conclusiones del estudio:

- Se ha informado acerca de la resistencia a fluconazol de *Cándida albicans*, quien es el agente etiológico aislado más frecuente en Candidosis bucoesofágica, de pacientes inmunocomprometidos por VIH/SIDA; deberemos considerar que la circunstancia de resistencia antimicrobiana, guarda relación con: la exposición a los agentes antimicrobianos, con la dosis, con el sitio blanco y con el apego a tratamiento, sin dejar de lado la interacción farmacológica que puede darse en cada caso.
- En este estudio no se identificó resistencia adquirida a azoles de *C.albicans*.
- A más de 20 años del uso de azoles hidrosolubles verbi gracia fluconazol, la sensibilidad de *Cándida albicans* a este azol fue de 96.6% para aislados de cavidad bucal y de 94.5% para aislados de cepillado de Esófago.
- El dolor bucal, retroesternal o disfagia fueron los síntomas predominantes en Candidosis bucoesofágica.
- La presencia de levaduras y pseudohifas, caracterizó los hallazgos fúngicos en las biopsias esofágicas. Algunos pacientes solo tuvieron presencia de levaduras, sin el desarrollo de estas estructuras, sabemos que algunas especies no desarrollan este factor de virulencia.
- El grado de severidad según la escala de Kodsi, es más frecuente fue el tipo I, algunas lesiones blancas sin formar placas, muchos pacientes fueron asintomáticos, aún teniendo lesiones en cavidad oral y reportada en Endoscopia.

- Existen aislamientos con diferentes especies en el mismo sitio, identificados en la misma muestra.
- Encontramos resistencia intermedia a fluconazol de *C. glabrata*, confirma que debemos contar siempre con el informe de la susceptibilidad a los antifúngicos, ya que en el caso de especies como *glabrata* conocemos su capacidad de resistencia intrínseca y adquirida y deberemos descartar la presencia de especies no albicans, a fin de proporcionar el mejor tratamiento antifúngico al paciente, lo que sumado a el estado inmunológico y el apego al tratamiento contribuirán al control del proceso infeccioso fúngico.

Discusión:

En el grupo de pacientes con inmunocompromiso por infección de VIH, la disminución de la inmunidad de tipo celular, favorece la presencia de infecciones consideradas oportunistas, entre ellas las infecciones bucales por *Cándida sp*; se ha señalado que se presentan hasta en el 90% de los casos, al menos alguna vez a lo largo de la historia natural de la enfermedad (1). El género *Cándida* está compuesto por un extenso y heterogéneo grupo de organismos que crecen en forma de levadura. La mayoría de los miembros de este género producen filamentos (pseudohifas); en cambio *C albicans* y *C dubliniensis* forman verdaderas hifas (tubos germinativos) y estructuras celulares con gruesas paredes llamadas clamidosporas (5).

La Candidosis bucal es la Infección más frecuentes en los pacientes con infección del virus de Inmunodeficiencia humana (VIH), y más aún se relaciona con el estadio C3, con cuentas de Linfocitos tipo CD4 por debajo de 200, y con riesgo elevado conforme la cuenta de éstas células sigue disminuyendo.

Cerca del 75% de los individuos sanos tienen *Cándida sp* como comensal en cavidad oral, los factores relacionados con la generación de enfermedad están plenamente descritos como locales y sistémicos.

Los cada vez más frecuentes reportes de resistencia, asociados a fallas terapéutica, hacen imprescindible contar con pruebas de susceptibilidad a anti fúngicos, circunstancia que orienta a los clínicos ya que al conocer la epidemiología hospitalaria, el patrón de susceptibilidad, determina el patrón de referencia de las levaduras para realizar la referencia de las cepas a los centros especializados al respecto y fortalecer una línea de investigación.

Desde el año 2008, el Subcomité de Pruebas antifúngicas del Instituto de Estándares Clínicos (*Clinical and Laboratory Standard Institute*), (CLSI) definió el punto de corte para los agentes activos contra los aislados de *Cándida species*, la concentración mínima inhibitoria (MIC) menor de 8 µg/ml fue clasificada como

sensible (S), aquellas iguales a 16 a 32 µg/ml consideradas sensibles dosis dependiente (S-DD) y las que tuviesen igual o mayor a 64 µg/ml son resistentes (17,18).

Nosotros encontramos en este trabajo que la Concentración mínima inhibitoria (CMI) de fluconazol para *Cándida sp* y reportarlo sensible es igual o menor de 1mcg/ml, para intermedio de 4-32 mcg/ml sensibles dependientes de dosis (SDD) e igual o mayor a 64 mcg/ml como resistentes según sistema VYTEK II y tarjetas AST-YS01, con criterios de CLSI ver. 2011. Probablemente en relación al tamaño de muestra es que no identificamos otras especies.

Como droga antifúngica de primera línea en el tratamiento de la Candidosis bucal y/o esofágica está el fluconazol debido a sus múltiples ventajas. La resistencia primaria a fluconazol es definida como resistencia en la ausencia de exposición previa a fluconazol. La resistencia secundaria ocurre como resultado del tratamiento con fluconazol. La falla clínica se refiere a la persistencia o progresión de la Candidosis a pesar de la terapia antifúngica.

Es fácilmente identificable que es multifactorial la resistencia de fluconazol a *C albicans*, tales como las mutaciones en el gen Erg11, la sobre expresión de los genes transportadores del eflujo de la droga como Cdr1, Cdr2 y Mdr1, en otros casos la naturaleza dinámica de la enzima demetilasa, favorece numerosas mutaciones que pueden conferir niveles diferente de resistencia a fluconazol (32, 33,34).

El aislamiento en los pacientes de especies de *Cándida no albicans* y la mayor disponibilidad de nuevos agentes antifúngicos, así como los cada vez más frecuentes reportes de resistencia, a *C albicans* como *no albicans*, asociados a fallas terapéutica, hacen imprescindible contar con pruebas de susceptibilidad a antifúngicos, circunstancia que orienta a los clínicos; ya que al conocer la epidemiología hospitalaria, el patrón de susceptibilidad antimicrobiana, determina el patrón de referencia de las levaduras o bacterias para realizar la referencia de

las cepas a los centros especializados al respecto y fortalecer una línea de investigación.

Como droga antifúngica de primera línea en el tratamiento de la Candidosis bucal y/o esofágica está el fluconazol debido a sus múltiples ventajas. La resistencia primaria a fluconazol es definida como resistencia en la ausencia de exposición previa a fluconazol. La resistencia secundaria ocurre como resultado del tratamiento con fluconazol. La falla clínica se refiere a la persistencia o progresión de la Candidosis a pesar de la terapia antifúngica.

Circunstancias como la no exposición previa a fluconazol, así como el amplio uso y la efectividad de la terapia antiretroviral han contribuido a lo que hoy observamos, se presentan menos episodios de Candidosis bucal y en forma paralela la disminución en la frecuencia de resistencia a fluconazol de *Cándida albicans* de origen bucoesofágica (41,42).

En este estudio se identificó a *Cándida albicans* en forma prevalente, en relación con otros estudios revisados, también es el aislamiento más frecuente tanto en cavidad bucal como en esofágica, en la literatura publicada y en este trabajo se describen aislamientos fúngicos de distinta especie en cavidad bucal y en esofágica, la mayoría fue el mismo aislamiento con diferente frecuencia de 59.9% hasta el 92 %, quizás influyendo las condiciones clínicas, estado inmunológico, condiciones sociodemográficas, comorbilidad.

Los factores que pueden afectar la respuesta clínica son el estado inmunológico del paciente (43), el apego al tratamiento y la presencia de biofilm por parte de *Cándida sp.* (44), y en forma frecuente la interacción farmacológica.

La literatura informa de la resistencia intrínseca o adquirida de *Cándida glabrata*, nosotros encontramos in vitro susceptibilidad intermedia; es muy factible que bajo

el estímulo de presión antimicrobiana ésta evolucione a resistencia. No identificamos otras especies como *Cándida krusei* y *C. lusitaniae*, ésta última que cursa con una resistencia importante a Anfotericina B.

En cuanto a las resistencias a los fármacos utilizados por el sistema Vyteck II, ninguna de las cepas aisladas de *Cándida sp* manifestó ser resistente, si bien con resistencia intermedia, la explicación a éste fenómeno no es clara, al considerar que el principal factor de riesgo es la exposición previa y prolongada a los azoles; circunstancia que no tuvieron los pacientes.

Nuestros resultados confirman la importancia de realizar estudios que contribuyan a comprender los resultados de estudios epidemiológicos fúngicos y la susceptibilidad in vitro a los agentes antifúngicos sobre las implicaciones clínicas.

BIBLIOGRAFIA

1. Ceballos SA, Gaitán CL, Ruesga MT, Ceballos GL, Quindós G. Prevalencia de lesiones orales por *Candida* en una población con SIDA sometida a terapia antirretroviral altamente activa. Rev Iberoam Micol 1998;15:141-5.
2. Meiller T , Hube B, Child L, Shirliff E, Scheper A et al. A novel immune evasion strategy of candida albicans:proteolytic cleavage of a salivary antimicrobial peptide. PLOS one 2009; 4(4):5039
3. De Repentigny L, Lewandowski D, Jolicoeur P. Immunopathogenesis of oropharyngeal candidiasis in human immunodeficiency virus infection. Clinical Microbiology Reviews 2004; 729-759.
4. Enwuru C, Ogunlufun A, Idika N, Ogbonna F. Fluconazole resistant opportunistic oropharyngeal candida and non candida yeast like isolates from HIV infected patients attending ARV clinics in Lagos, Nigeria. African Health Sciences 2008;8(3):142-148.
5. Calderone RA, Cornelius JC. *Candida* and candidiasis. ASM Press; 2012.
6. Pappas PG. Invasive candidiasis. Infect Dis Clin North Am. 2006; 20(3):485-506.
7. Pelroth J, Choi B, Spellberg B. Nosocomial fungal infections: epidemiology, diagnosis and treatment. Med Mycol. 2007; 45:321-246.
8. Kollef MH, Napolitano LM, Salomkin JS, Wunderink RG, Bae IG, Fowler VG, et al. Health care-associated infection (HAI): a critical appraisal of the emerging treat-proceeding of the HAI summit. Clin Infect Dis. 2008; 47(2): 55-99.
9. Quindós G. Nosocomial candidemias and invasive candidiasis. Med Clin. 2010; 134(1):17-9.
10. Gabler I, Barbosa A, Vilela R, Lyon S, Rosas C. Incidence and anatomic localization of oral candidiasis in patients with AIDS hospitalized in a public hospital in Belo Horizonte, Brazil. J Appl Oral Sci 2008;16(4):247-250.
11. Hamza O, Moshi M, Simon E, Mugusi F, et al. species distribution and in vitro antifungal susceptibility of oral yeast isolates from Tanzanian HIV-

- infected patients with primary and recurrent oropharyngeal candidiasis. BMC Microbiology 2008;8(2): 135-141
12. Puerto J, García P, Márquez A, García L, Mira J. Candidiasis orofaríngea. RevDiagnBiol 2001;50(4):177-181.
 13. Sánchez-Vargas L, Ortiz-López N, Villar M, Morague M, Aguirre J, et al. Point prevalence, microbiology and antifungal susceptibility patterns of oral Candida isolates colonizing or infecting Mexican HIV/AIDS patients and healthy persons. Rev IberoamMicol 2005;22():83-92.
 14. Abdul-Lattif A, Banerjee U, Prasad R, Biswas A, Wig N, et al. Susceptibility pattern and molecular type of species specific Candida in oropharyngeal lesions of Indian Human Immunodeficiency Virus positive patients. J Clin Microbiol 2004;42 (3) 1260-1262.
 15. Mujica M, Finkelievich J, Jewtuchowicz V, Iovannitti C. Prevalencia de Candida albicans y Candida no albicans en diferentes muestras clínicas. Periodo 1999-2001. Revista argentina de Microbiología 2004;36():107-112.
 16. German G, Laverdiere M, Pelletier R, Bourgault A, Libman M, et al. Prevalence and antifungal susceptibility of 442 Candida isolates from Blood and other normally sterile sites: results of a 2 year (1996 to 1998) multicenter surveillance study in Quebec, Canada. Journal of clinical Microbiology 2001;39(3):949-953.
 17. Pfaller MA, Boyken LB, Hollis RJ, Kroeger J, Messer SA, Tendolkar S, Diekema DJ. Validation of 24-hour fluconazole MIC readings versus the CLSI 48-hour broth microdilution reference method: results from a global Candida antifungal surveillance program. J Clin Microbiol. 2008;46:3585-90.
 18. Pfaller MA, Diekema DJ, Sheehan DJ. Interpretive breakpoints for fluconazole and Candida revisited: a blueprint for the future of antifungal susceptibility testing. Clin Microbiol Rev. 2006;19:435-7.
 19. Flores de Apodaca Z, Martínez G, Ruiz A, Fernández C, Muñe M, et al. candidiasis esofágica en pacientes con SIDA. Estudio clínico y microbiológico. Rev Cubana Med Trop 1998;58(2):110-114.

20. Brawner D, Anderson LM, Yuen K. Serotype prevalence of *Candida albicans* from blood culture isolates. *Journal of clinical microbiology* 1992;...():149-153.
21. Sullivan D, Coleman D. *Candida dubliniensis*: an emerging opportunistic pathogen. *Curr Top Med Mycol* 1997;8:15–25.
22. Pfaller MA, Messer SA, Gee S, Joly S, Pujol C, et al. In vitro susceptibilities of *Candida dubliniensis* isolates tested against the new triazole and echinocandin antifungal agents. *J Clin Microbiol* 1999;37:870–2.
23. Moran GP, Sanglard D, Donnelly SM, Shanley D, et al. Identification and expression of multidrug transporters responsible for fluconazole resistance in *Candida dubliniensis*. *Antimicrobial Agents Chemother* 1998;42:1819–30.
24. Jabra-Rizk MA, Falkler WA Jr, Merz WG, Baqui AAMA, Kelley JI, Meiller TF. Retrospective identification of *Candida dubliniensis* among *Candida albicans* clinical laboratory isolates from HIV and non-HIV individuals. *J Clin Microbiol* 2000;38:2423–6.
25. Sanglard DK, Kuchler JL, Pagani MM, Bille J. Mechanisms of resistance to azole antifungal agents in *Candida albicans* isolates from AIDS patients involve specific multidrug transporters. *Antimicrob Agents Chemother*. 1995;39:2378–2386.
26. Fling ME, Kopf J, Tamarkin A, Gorman JA, Smith HA, Koltin Y. Analysis of a *Candida albicans* gene that encodes a novel mechanism for resistance to benomyl and methotrexate. *Mol. Gen. Genet.* 1991; 227:318–329.
27. Marger MD, Saier MH. A major superfamily of transmembrane facilitators that catalyze uniport, symport and antiport. *Trends Biochem Sci* 1993 18:13–20.
28. Ramage G, Vande Walle K, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Biofilm formation by *Candida dubliniensis*. *J Clin Microbiol* 2001;39:3234–40.
29. Ramage G, Bachmann S, Patterson TF, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Investigation of multidrug efflux pumps in relation to fluconazole resistance in *Candida albicans* biofilms. *J Antimicrob Chemother* 2002;49:973–80.

30. Sullivan D, Coleman D. *Candida dubliniensis*: an emerging opportunistic pathogen. *Curr Top Med Mycol* 1997;8:15–25.
31. Venkateswarlu, K, Denning DW, Manning N J, . Kelly SL. Resistance to fluconazole in *Candida albicans* from AIDS patients correlated with reduced intracellular accumulation of drug. *FEMS Microbiol. Lett.* 1995;131:337–341.
32. Perea, S., J.L. Lopez-Ribot, W.R. Kirkpatrick, R.K. McAtee, R.A. Santillan, M. Martinez, D. Calabrese, D. Sanglard, T.F. Patterson. Prevalence of molecular mechanisms of resistance to azole antifungal agents in *Candida albicans* strains displaying high-level fluconazole resistance isolated from human immunodeficiency virus-infected patients *Antimicrob. Agents Chemother* 2001;45:2676–2684.
33. Sanglard D, Odds .C.. Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *Lancet Infect Dis* 2002;2:73–85.
34. White TC, Holleman S, Dy F, Mirels LF, Stevens DA. Resistance mechanisms in clinical isolates of *Candida albicans* . *Antimicrob. Agents Chemother* 2002;46:1704–1713.
35. Mendoza M, Russian E, Villanueva E, Torres E, Albornoz M. Serotipificación de 48 aislados de *Candida albicans*: predominio del serotipo A sobre el en Venezuela. *Invest Clin* 1992;33(1):33-37.
36. Silva V, Cabrera M, Diaz M, Abarca C, Hermosilla G. Prevalencia de serotipos de *Candida albicans* en aislamientos de hemocultivo en Chile y primer caso de candidemia por *Candida dubliniensis*. *Rev Iberoam Micol* 2003;20(3): 46-51.
37. Fu Y, Guanpinsheng Y, Spellberg J, Edwards J, Asraf I. Gene overexpression/suppression analysis of candidate virulence factors of *Candida albicans*. *Eukaryotic cell* 2008 ();483-492.
38. Huaqian J, Seyfang A. High affinity myoinositol transport in *Candida albicans*: substrate specificity and pharmacology. *Microbiology* 2003;143(2):3371-3381.

39. Sampaio P, Gusmao L, Correia A, Alves C, Rodriguez A, et al. New microsatellite multiplex PCR for *Candida albicans* strain typing reveals microevolutionary changes. *Journal of Clinical Microbiology* 2005;43(8):3869-3876.
40. Challacombe S, Naglik J. The effects of HIV infection on oral mucosal immunity. *Adv Dent Res* 2006;19(): 29-35.
41. Martins MD, Lozano-Chiu M, Rex JH. Declining rates of oropharyngeal candidiasis and carriage of *Candida albicans* associated with trends toward reduced rates of carriage of fluconazole-resistant *C. albicans* in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin Infect Dis*. 1998;27:1291-4.
42. Kaplan JE, Benson C, Holmes KK, et al. Guidelines for prevention and treatment of opportunistic infections in HIV-infected adults and adolescents: recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America. *MMWR Recomm Rep*. 2009;58(RR-4):1-207.
43. Seymour GJ., Clancy R L., Ashman R B., Farah CS., et al. Primary Role for CD4+ T Lymphocytes in Recovery from Oropharyngeal Candidiasis *Infect. Immun.* 2002, 70(2):724.
44. Ghannoum MA., Mukherjee PK., Chandra J, Duncan MK. Role of Efflux Pumps and Membrane Sterols Mechanism of Fluconazole Resistance in *Candida albicans* Biofilms: Phase-Specific. *Infect. Immun.* 2003, 71(8):4333.