

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

***"FRECUENCIA DE CANDIDOSIS ORAL EN
PACIENTES INMUNOCOMPROMETIDOS"***

Informe final

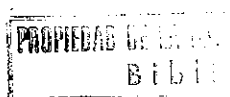
Presentado por:

Lorena Beatriz Arriaza Hernández

Para optar al título de:

Químico Biólogo

Guatemala, noviembre de 1995



R.
06
T(1785)
C.3

JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

DECANO *LIC. JORGE RODOLFO PEREZ FOLGAR*

SECRETARIA *LICDA. ELEONORA GAITAN IZAGUIRRE*

VOCAL I *LIC. MIGUEL ANGEL HERRERA GALVEZ*

VOCAL II *LIC. GERARDO LEONEL ARROYO CATALAN*

VOCAL III *LIC. MIGUEL ORLANDO GARZA SAGASTUME*

VOCAL IV *BR. ANA MARIA RODAS CARDONA*

VOCAL V *BR. HAYRO OSWALDO GARCIA GARCIA*

DEDICO ESTA TESIS A:

DIOS:

Por ser la fuente de luz, fuerza, voluntad y amor que me ha ayudado a lo largo de mi vida.

MIS PADRES:

Adolfo Humberto Arriaza y María de J. Hernández A.

Por el apoyo moral, espiritual y económico que me han brindado siempre. Que esto sea para ellos un motivo de felicidad y orgullo por sus múltiples esfuerzos.

MI ESPOSO:

Rony German Sum Velásquez.

Con mucho amor por el apoyo que me ha brindado para poder culminar mi carrera.

MI HIJA:

María del Rosario.

Porque con sus pocos años, ha sido ella el principal motivo de mi superación. Te amo cielo.

MIS HERMANOS:

Patty, Fito, Carol y Lucy.

Por todo el apoyo y principalmente todo el amor que me han brindado siempre.

Sergio Melgar con cariño por su apoyo, y consejos que ha sido para mí como un hermano más.

MIS SOBRINITOS:

Sergio A. Melgar Arriaza y Adolfo Arriaza García. Con mucho amor.

MIS ABUELITOS:

+ Juana B. Vda. de Hernández. + Carlos H. De León.

Por el amor tan especial que me brindaron. Que Dios los tenga en la Gloria.

María Vda. de De León. Con mucho cariño.

MIS TIOS Y PRIMOS EN GENERAL:

Con mucho cariño.

En especial a toda la familia Hernández.

FAMILIA SUM VELASQUEZ:

Con mucho cariño. En especial a mis cuñados Mario y Lys por su apoyo y colaboración en la realización de esta tesis.

MIS AMIGOS:

En especial a:

- * Promoción 90 de la facultad, con mucho cariño, agradeciéndoles su amistad, compañerismo y todos los momentos que disfrutamos juntos.
- * Grupo de Oración Gethsemaní (1985-1988).

Con mucho amor. Donde se encuentren, que Dios les bendiga a todos.

MIS CATEDRATICOS:

A todos. Desde mi maestra de parvulitos hasta al Decano de la Facultad de Farmacia porque cada uno de ellos me dió lo mejor de sí mismo a lo largo de mi vida estudiantil.

AGRADECIMIENTOS

A:

Dios y la Virgen del Rosario:

Porque han cuidado mis pasos siendo la luz de mi camino.

A:

Licda. Heidy Elke Logeman:

Por su apoyo incondicional en la realización de éste trabajo.

A:

Doctores: Patricia Chang de Chang (IGSS), Abel Anzueto (HGSJD), Campbell (IGSS), María Lou de Forbes (Periférica el Amparo II), Lic. inf. Rudy Lara, por las facilidades prestadas en la realización de la parte práctica de ésta investigación.

A:

Todo el personal de enfermería y Técnicos de laboratorio del IGSS y Hospital General San Juan de Dios por su valiosa colaboración, en especial a:

Sra. de Izquierdo

Sra. María Ester de Estrada.

A:

Srita. Elizabeth Hurtarte:

Por la colaboración tan importante que me proporcionó en la realización de este trabajo.

INDICE

CONTENIDO	PAG.
1. RESUMEN	01
2. INTRODUCCION	02
3. ANTECEDENTES	03
3.1- Definición e historia	03
3.2- Epidemiología	05
3.3- Etiología	06
3.4- Patogénesis y anatomía patológica	07
3.5- Defensa del huésped	12
3.6- Factores predisponentes	16
3.7- Inmunología	18
3.8- Diagnóstico	23
3.9- Pronóstico y tratamiento	26
4. JUSTIFICACIONES	30
5. OBJETIVOS	31
6. HIPOTESIS	32
7. MATERIALES Y METODOS	33
7.1- Universo	33
7.2- Muestra	33
7.3- Recursos	33
7.4- Método	35
7.5- Reporte e Interpretación de Resultados	35
7.6- Diseño Epidemiológico	36
8. RESULTADOS	39
9. DISCUSION DE RESULTADOS	43
10. CONCLUSIONES	45
11. RECOMENDACIONES	46
12. REFERENCIAS	47

1. RESUMEN

La candidosis oral es una infección que generalmente es una manifestación inicial de cualquier deficiencia inmune y en la que el agente etiológico es Candida sp.

En el presente trabajo se muestrearon a 100 pacientes con algún factor inmunológico predisponente. Se tomaron 3 muestras de cada paciente, carrillos, lengua, y paladar, inoculando cada una de las muestras en sabouraud y Mycosell, así también se realizó una observación con KOH.

A los pacientes muestreados no se les tomó en cuenta edad, sexo ni condición social, únicamente que fueran inmunocomprometidos.

Esta investigación es un estudio epidemiológico que tiene como fin el de establecer la frecuencia que existe en los paciente inmunocomprometidos de adquirir una candidosis oral y así también establecer qué especie de Candida es la más frecuentemente encontrada.

La hipótesis de éste estudio: "Las lesiones de la mucosa oral causada por Candida albicans son un padecimiento frecuente en pacientes inmunocomprometidos" quedo plenamente demostrada al realizar la parte experimental de ésta investigación, ya que se pudo comprobar cómo los pacientes inmunocomprometidos son afectados en su mayoría por candidosis oral siendo el agente etiológico C. albicans encontrada en un 100% de los cultivos positivos. Así también se pudo observar como pacientes sin lesiones y con cultivos positivos, al poco tiempo presentaron manifestaciones de características de candidosis oral.

2. INTRODUCCION

La candidosis oral es un problema presentado frecuentemente como una infección crónica recurrente, en el que el agente etiológico es Candida sp (1).

Esta infección es generalmente una manifestación inicial de cualquier deficiencia inmunológica. Contribuyen a ésta deficiencia ciertos factores, como el uso de antibióticos, corticoides o estados patológicos que debiliten al paciente (tales como leucemias o linfomas) (2).

Según estudios realizados anteriormente, se sabe que C. albicans es la especie más frecuente en la candidosis oral. Esto se debe a los varios factores de patogenicidad y virulencia que posee; entre estos uno de los más importantes es la adherencia a las células epiteliales (3).

En años recientes, la morbilidad y mortalidad de la infección por Candida sp. se ha incrementado considerablemente (4).

En el presente estudio se determinará cuál es la especie más frecuente de Candida como agente etiológico de candidosis oral en pacientes inmunocomprometidos. Se establecerá estadísticamente la diferencia entre las deficiencias inmunes y la capacidad de Candida sp. de producir candidosis oral.

Para este propósito se tomarán muestras de pacientes que consultan al Hospital General San Juan de Dios y al Hospital de Enfermedad Común del IGGS con o sin manifestaciones de candidosis oral. No se tomará en cuenta, edad, sexo, condición social ocupación de los pacientes, únicamente que presenten algún tipo de inmunosupresión. Se hará una comparación con un grupo control para establecer diferencias entre los dos grupos, ya que Candida albicans puede encontrarse como parte de la microbiota en la mucosa oral.

3. ANTECEDENTES

3.1. DEFINICION E HISTORIA

La candidosis oral es una infección primaria o secundaria, producida por miembros del género *Candida* (1). Esta infección afecta la lengua, el paladar blando, la mucosa bucal y, a menudo el tercio distal del esófago. Las lesiones se caracterizan por presentar una pseudomembrana de color blanco a gris que contiene numerosos microorganismos (5).

Las especies de *Candida* son organismos oportunistas encontrados como saprófitos en la cavidad oral del 20 al 40 por ciento de pacientes normales, pero un ambiente adecuado y una deficiente respuesta inmune, son condiciones importantes que contribuyen a que se desarrolle la candidosis (6).

Según la historia, Hipócrates describió una lesión como "parches" en pacientes debilitados.

En 1665, fue descrita esta enfermedad en recién nacidos y Veron en 1835, postuló que era adquirida durante el paso a través del canal del parto. El término "monilia" con el cual a veces es confundida *Candida* fue usada por primera vez por Hill en 1751 (1).

El agente etiológico no se descubrió hasta en 1839, en que Lagenbeck encontró la levadura en lesiones micóticas.

En 1840 Berg, consideró la transmisión debida a condiciones no higiénicas y en pacientes con enfermedades debilitantes. La debilidad fue propuesta por Bennet en 1944 (1).

Posteriormente en 1842 Gruby describió el verdadero agente causal del "muguet" de los niños (2).

En 1847 Robin la nombró Oidium albicans pero finalmente en 1923 Berkhout estableció el género Candida el cual fue aceptado como el Nomen conservandum por el Octavo congreso de Botánica en París en el año 1954 (1).

A lo largo de muchos años las especies del género Candida han ido tomando varios nombres entre los cuales se pueden citar los siguientes:

Candida albicans (Robin) 1923

sinónimo

Oidium albicans (Robin) 1853

Monilia psilosis (Ashford) 1917

Syringospora inexorabilis (Dodge) 1935

Candida tropicalis (Castellani) 1923

sinónimo

Monilia candida (Hansen) 1888

Monilia onychophila (Pollaci y Mannizzi) 1926

Mycotorula trimorpha (Redaelli y Ciferri) 1935

Candida krusei (Castellani) 1923

sinónimo

Saccharomyces krusei (Castellani) 1913

Monilia krusei (Castellani y Chalmers) 1913

Candida parapsilosis (Castellani y Chalmers) 1934

sinónimo

Monilia parakrusei (Castellani y Chalmers) 1913

Monilia parapsilosis (Ashford) 1928

Candida quillermondi (Langeron y Guerra) 1938 (7)

3.2. EPIDEMIOLOGIA

La candidosis está ampliamente distribuida en todo el mundo, ocurre en todas las edades, razas y en ambos sexos. Se han reconocido causas predisponentes para su desarrollo, como por ejemplo: alimenticias (desnutrición), higiénicas, o secundarias a otras enfermedades (tal es el caso del síndrome de inmunodeficiencia adquirida, diabetes u otras enfermedades debilitantes) (7,8).

El muguet o algodoncillo que es una pseudomembrana en forma de placas brillantes o cremosas adherentes, que cubren la mucosa oral, se observa con más frecuencia en lactantes cuyas madres padecen candidosis vaginal (7). El hábito de lamer los lados de la boca puede producir perleche, que es una inflamación de las comisuras de la boca con fisuras (9).

Las especies de *Candida* pueden descubrirse en la naturaleza pero con mayor frecuencia se originan del hombre donde se encuentra colonizando orofaringe, tubo digestivo, vagina y piel (10).

La candidosis oral puede ocurrir en cualquier edad pero es predominante en niños o pacientes viejos y débiles (9). Se ha observado que ocurre con mayor frecuencia en niños que se alimentan con "pacha" que los niños que son amamantados. Esto puede indicar que la inmunidad pasiva juega un papel importante en la defensa contra la candidosis oral (9).

3.3. ETIOLOGIA

El principal agente causal de candidosis oral es Candida albicans, que es un habitante frecuente de la cavidad oral, tracto digestivo, piel y mucosa vaginal de sujetos normales.

Tradicionalmente este microorganismo ha sido considerado un hongo oportunista, pero en la actualidad se han realizado estudios que demuestran que posee ciertos factores de virulencia que hacen que sea considerado como patógeno afectando principalmente a personas inmunocomprometidas (por ejemplo en el recién nacido, los afectados por procesos malignos linforreticulares, los que reciben terapia inmunosupresora o con alguna otra predisposición) (8,11,12). Otras especies de Candida que se han encontrado en la boca son C. krusei, C. paracrusei y C. tropicalis (9).

Candida es un organismo unicelular levaduriforme que se caracteriza por la producción de hifas, pseudohifas y blastoconidias (8). Las blastoconidias, son ovales o redondeadas de 2-4 micras de diámetro y se forman por gemación. Las formas de levadura y micelio son antigénicamente distintos (9).

Las levaduras son la forma que suele producir colonización y asumen una configuración pseudo-hifal, en especial durante la invasión tisular. Las pseudo-hifas son gram positivo y son producto de la gemación en secuencia de levaduras (blastoconidias), lo que produce cadenas ramificadas de microorganismos separados por constricciones (10). Candida albicans también puede producir hifas verdaderas que crecen por elongación y forman tabiques en ángulo recto (8).

Candida albicans crece rápidamente en 24-48 horas, ya sea a 27°C o a 37°C. Su colonia es pastosa, blanquecina como gota de parafina. Microscópicamente no se pueden diferenciar las distintas especies de Candida, por eso se hacen necesarias pruebas especiales como la producción de tubos germinales y clamidosporas (13).

En agar Sabouraud-glucosa a temperatura ambiente, las colonias de Candida son blancas, cremosas, elevadas, opacas y suaves con un olor característico (1). Se puede observar micelio vegetativo o rizoides después de varios días en agar enriquecido (8). También se han cultivado muestras clínicas en agar Levine-azul de eosin-metileno incubando a 37°C en jarra con candela por dos días. En este medio la apariencia de las colonias de C. albicans son como tela de araña, y las de otras especies de Candida son lisas y redondeadas (1).

C. albicans es la única especie que produce clamidosporas al inócularse en agar cornmeal (medio deficiente en sustratos rápidamente metabolizables (8).

3.4 PATOGENESIS Y ANATOMIA PATOLOGICA

Parece existir una relación entre la forma en que se presenta el hongo en las lesiones (levaduriforme o filamentosa) y en su poder patógeno. La composición química, tanto cualitativa como cuantitativa de ambos difiere. En la forma filamentosa parece existir mayor cantidad de mananos que resultan tóxicos para los ratones y resiste mejor y por mayor tiempo a la digestión de los neutrófilos (2).

El desarrollo de la patogenicidad de *Candida*, se debe principalmente a un cambio en las defensas del huésped, lo que lo hace más sensible al ataque por el microorganismo, pero recientemente se han encontrado factores de virulencia específicos para *C. albicans* lo que lo hace un microorganismo patógeno (8,14).

Se ha observado que la especie parasítica más virulenta es *C. albicans*, la cual se ha encontrado en tejidos infectados en la forma tanto filamentosa como levaduriforme (9,15).

Se sabe que *C. albicans* posee productos tóxicos que aunque no son los que inician la enfermedad actúan irritando los tejidos agravando las lesiones. Además produce enzimas que permiten su penetración a las membranas mucosas (16).

La adherencia del microorganismo a las células epiteliales es uno de los factores que contribuyen en la colonización de la superficie de la mucosa y de allí la capacidad de causar enfermedad (3).

Se ha demostrado que la producción de tubos germinales por la especie de *C. albicans* es una condición importante para aumentar la adherencia a las células epiteliales, y de ésta forma aumenta la frecuencia de infecciones por este microorganismo (3,17). Se sabe que durante la transición de la forma levaduriforme a la filamentosa los componentes superficiales de éstos cambian. La razón de este fenómeno aún no está muy clara pero podría ser importante en el aumento de la adherencia. Esto se evidencia por antígenos específicos presentes en los tubos germinales y que no están en la forma levaduriforme. Se

creo que en la membrana de las células epiteliales existen receptores de superficie específicos para los componentes de los tubos germinales (3).

Estudios realizados por Kimura y Pearsall en células epiteliales de la mucosa oral y vaginal de pacientes sanos, sugieren que C. albicans tiene mayor capacidad de adherencia que las otras especies de Candida. C. tropicalis mostró moderada capacidad de adherencia y C. parapsilosis mostró muy poca adherencia (11). Esto se observó cuando se produjo la formación de tubos germinales de las especies de Candida en cultivo de tejido TC 199 de donde, C. albicans y C. tropicalis formaron tubos germinales y aumentaron su adherencia, a diferencia de las especies que no los formaron (17).

Estas variaciones en la capacidad de adherencia de las diferentes especies de candida podría explicar en parte por qué algunas colonizan la mucosa más frecuentemente que otras (15). Estos datos fueron obtenidos de estudios realizados in vitro en donde, se indicó que la adherencia es dependiente de la temperatura (15), ya que a 37°C que es la temperatura que favorece la formación de tubos germinales la capacidad de adherencia aumentó y a 25°C ésta sufrió una disminución (17).

También se observó que la adherencia puede ocurrir en condiciones tanto ácidas como alcalinas, así como también hubo una variación en la capacidad de adherencia en células de distintos donadores, lo que refleja una susceptibilidad relativa de ciertos pacientes a la colonización por candida (15).

En la candidosis oral existe una gran área de la mucosa involucrada y si la infección se extiende por el torrente sanguíneo puede volverse crónica (9).

En referencia a la anatomía patológica, la candidosis oral se puede clasificar en: Candidosis atrófica aguda. Esta puede seguir a la candidosis aguda pseudomembranosa. Es muy dolorosa mostrando una lengua lisa y eritematosa, con cheilitis y con menor frecuencia inflamación de labios y mejillas.

Candidosis atrófica crónica, la cual es más conocida como "estomatitis", se presenta como un eritema difuso en el paladar.

Candidosis mucocutánea crónica. Esta incluye 4 tipos clínicos caracterizados por una infección superficial por *Candida* persistente. Entre éstos se encuentran: a) Candidosis oral crónica hiperplásica, está limitada a la boca y se presenta como parches blancos en la lengua, labios o mejillas, puede persistir por muchos años e incluso toda la vida. b) Candidosis mucocutánea crónica localizada que comienza en la niñez y la infección puede involucrar uñas y piel de manos y pies. c) Candidosis mucocutánea crónica localizada con granuloma. Esta tiene la característica particular de desarrollar masas granulomatosas que afectan la cara y cuero cabelludo, también presenta lesiones cutáneas hiperqueratósicas circunscritas. d) Candidosis mucocutánea crónica localizada con desórdenes endócrinos hallada en adultos jóvenes y niños (6,18).

Perleche (cheilitis angular). Es una inflamación de las comisuras de la boca con fisuras o grietas. Las lesiones se extienden desde la mucosa oral a los labios como erosiones satélites dispersas, y a la piel de la cara.

La piel de los labios es macerada y gruesa, siendo en éstas áreas más marcadas las lesiones (9).

Candidosis aguda pseudomembranosa (trush o algodoncillo). El algodoncillo o "muguet" de la boca, se ve comúnmente en infantes o adultos débiles, se

caracteriza por la aparición de una pseudomembrana en forma de placas blancas cremosas adherentes o algodonosas, bien limitadas y confluentes que cubren la lengua, paladar blando, mucosa bucal y otras superficies orales. Puede tratarse de placas únicas o múltiples que cuando se arrancan ponen de manifiesto una base roja, húmeda y brillante (2). Puede comenzar en cualquier parte de la boca como una hinchazón o úlcera primaria o como una lesión secundaria a alguna otra anormalidad oral (9). Este cuadro clínico es frecuente y si se observa más allá del período de recién nacido o en personas que no toman antibióticos se debe buscar una deficiencia inmunitaria sobre todo en la rama timodependiente (12). Generalmente las lesiones del algodoncillo son indoloras pero cuando hay fisuras en los ángulos de la boca son dolorosas (10). Usualmente se ha observado que los pacientes refieren tener sensación de ardor o sequedad en la boca (9). Puede haber ulceración o necrosis. Si se afecta la laringe puede haber ronquera. La esofagitis es extensión de la enfermedad bucofaríngea y se manifiesta por dolor retroesternal y disfagia (10).

3.5 DEFENSA DEL HOSPEDERO

En la defensa frente a la infección por hongos del género *Candida* intervienen barreras naturales inespecíficas y mecanismos adquiridos específicos (2). Entre los inespecíficos se encuentran las barreras naturales y mecanismos inmunes inespecíficos.

La piel es una barrera natural que confiere protección al hospedero contra las infecciones. El epitelio actúa como una barrera física y contribuye a la defensa del hospedero (16). La mucosa es menos efectiva como barrera natural y se pueden establecer aquí muchas infecciones. La secreción del moco provee alguna protección, atrapando partículas microbianas que se pueden remover por mecanismos como movimiento ciliar, estornudo o tos (19). Estos mecanismos no tienen una acción efectiva contra *Candida* pues las levaduras tienen una particular predilección por las superficies de la mucosa ya que aquí han sido identificados receptores específicos para *Candida*. La microbiota previene el sobrecrecimiento de microorganismos oportunistas, compitiendo por los nutrientes y pueden producir compuestos inhibitorios como ácidos. Esta puede restringir pero no eliminar la adherencia a las mucosas por *Candida* debido a una competencia en los sitios de adherencia de las células epiteliales (5,16,19).

Además de esto, son activados una variedad de mecanismos protectores intraoralmente. La saliva contiene factores antimicrobianos como la lisozima, lactoperoxidasa y lactoferrina (16).

La lisozima presenta una actividad antibacteriana debido a la lisis que ésta provoca. En presencia de IgA y complemento causa aglutinación e incrementa la actividad fungicida de las levaduras de C. albicans (16). Se ha observado que la lisozima tiene un efecto en la ultraestructura de C. albicans, causando destrucción en la membrana celular, acumulación de un material pasando más allá del citoplasma y otros cambios asociados con la alteración de la función de la membrana. La lisozima también estimula la fagocitosis en asociación con IgA. Las acciones de la lisozima en hidrólisis de las proteínas estructurales de la pared celular, daño al citoplasma, aglutinación de las especies de candida y estimulación de la fagocitosis, indican un papel significativo en la defensa del huésped en la candidosis oral (16).

La lactoferrina aumenta durante una inflamación en la cavidad oral. In vitro, tiene una actividad anti-fúngica y antibacteriana en concentraciones similares a las que se encuentran en la cavidad oral (16).

La lactoperoxidasa también tiene actividad antimicrobiana. El crecimiento de C. albicans es inhibido por el sistema de la peroxidasa (16).

Las glicoproteínas salivales que son similares a los componentes de la superficie celular de C. albicans pueden competir con ella en la adherencia a la mucosa (16). Por otro lado el hierro que es un nutriente esencial, es un factor local importante en las infecciones orales, tanto de bacterias como de hongos, la presencia de hierro in vitro,

aumenta el crecimiento de Candida. El hierro modula la actividad de lisozima, y unido a proteínas inhibe el crecimiento o mata a Candida albicans in vitro (16).

Entre los mecanismos inmunes inespecíficos la respuesta inflamatoria es la más importante de los mecanismos de defensa no específicos del hospedero. Es estimulada por la penetración de los elementos fúngicos bajo el epitelio, piel, mucosas etc.(17).

Hay dos elementos de la respuesta inflamatoria, primero compuestos químicos solubles como lisozima, citoquinas, interferón, complemento y proteínas de fase aguda; segundo, elementos celulares como neutrófilos y macrófagos con función fagocítica. Los neutrófilos tienen un papel importante en la defensa contra la infección fúngica (19).

Se ha señalado que los gránulos de los neutrófilos producen proteínas catiónicas similares a la quimiotripsina que parecen actuar incrementando la permeabilidad de la membrana de las levaduras (2). Se sabe que los neutrófilos tienen una actividad microbicida establecida como defensa contra las infecciones por Candida. También contienen una proteína abundante, la cual puede controlar el crecimiento de C. albicans sin matar el microorganismo (20,21). Esta proteína se encuentra en el citoplasma de los neutrófilos y se libera sólo por lisis, la cual ocurre fácilmente en sitios infectados in vivo. Este mecanismo puede jugar un papel importante en la ayuda a células inflamatorias para controlar la infección (21).

El neutrófilo posee una habilidad candidicida mayor que los otros leucocitos. Las células mononucleares también interactúan al producir un factor estimulante de colonias el cual aumenta la capacidad de los neutrófilos para engolfar y matar la blastoconidia de C. albicans (19).

Por otro lado, el complemento, específicamente la fracción C3, tiene un papel importante en la fagocitosis de las levaduras por los neutrófilos, principalmente cuando no existen anticuerpos IgG específicos frente a C. albicans (2).

La inmunidad local oral puede tener un papel significativo en las interacciones hospedero-parásito, la saliva contiene inmunoglobulinas que son importantes en las infecciones orales, tales como la IgA que afecta la adherencia de C. albicans a las células epiteliales bucales (16).

Defensas específicas: Si bien es cierto que se producen anticuerpos específicos frente a C. albicans, el papel defensivo que juega es muy discutido: algunos opinan que las IgG anti-candida favorecen la fagocitosis por los neutrófilos, otros señalan que altos títulos de anticuerpos pueden inhibir la muerte celular de las levaduras ingeridas (2).

Los linfocitos T y B son los más importantes en la defensa específica. Estas células emplean un mecanismo que envuelve reconocimiento y memoria al organismo extraño, el cual amplifica su acción y facilita una rápida respuesta a una repetida presentación del antígeno. Los linfocitos B son los responsables de la respuesta humoral con producción de anticuerpos. Los linfocitos T son los encargados de la respuesta mediada por células, la cual es muy importante en las infecciones fúngicas (19).

3.6. FACTORES PREDISPONENTES

Las levaduras del género *Candida* requieren un terreno especial para su desarrollo los más frecuentes son:

3.6.1 Situaciones fisiológicas

En que las defensas inmunológicas no son las óptimas (recién nacidos y ancianos).

3.6.2 Estados patológicos

Tales como leucemia, linfoma, (y sus tratamientos los que producen una inmunosupresión). Así como el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

3.6.3 Empleo de antimicrobianos

Estos conllevan a las siguientes consecuencias:

Destrucción de la microbiota que provoca un crecimiento desmedido de las levaduras, que son resistentes a éstos agentes. Alteración de la mucosa intestinal lo que facilita el paso de levaduras a través de ella. Disminución de la eficiencia de los neutrófilos para destruir a *Candida*.

3.6.4 Uso de corticoides

(solos o con antibióticos) suprimen la respuesta de los neutrófilos frente a *Candida* sp. impiden la migración de los neutrófilos o afectan la fagocitosis y digestión de las levaduras englobadas.

- 3.6.5 Desaparición de barreras externas
(quemados, intervenciones quirúrgicas etc.), las levaduras alcanzan directamente el medio interno.
- 3.6.6 Un aumento de la glucosa
Es favorecedora del desarrollo y multiplicación de Candida sp. (2).
- 3.6.7 Una pobre higiene oral
Promueve la proliferación en pequeñas cantidades de Candida sp. (1).
- 3.6.8 Los agentes inmunosupresores y otras drogas
Anulan las defensas del hospedero y lo predisponen a candidosis. Así como varios defectos inmunes asociados con una función anormal de leucocitos (1).
- 3.6.9 Pobre estado nutricional
Una dieta baja en proteínas ha mostrado que reduce la inmunocompetencia y aumenta la susceptibilidad a la infección (19).
- 3.6.10 Efectos hormonales
Se conoce poco el efecto de éstos, pero estudios realizados han mostrado que las mujeres son más resistentes a la candidosis sistémica que los hombres, posiblemente por una razón relacionada con la producción endócrina (19).

Además de todo esto se sabe que la levadura también posee algunos factores de virulencia que contribuyen a que el hospedero adquiera la infección. Entre éstos podemos mencionar:

Factores mecánicos: El fenómeno más importante es el escape de Candida del engolfamiento de los neutrófilos polimorfonucleares.

El hongo es fagocitado en su fase levaduriforme, cambia a la fase filamentosa dentro de la célula penetrando la membrana y destruyendo la célula (19). También se han descrito exo y endotoxinas fúngicas, entre las que se puede mencionar la candidotoxina que causa muerte y necrosis de los tejidos, las toxinas glicoproteicas y toxinas de bajo peso molecular aisladas que actúan como alérgenos, los cuales desencadenan reacciones inmunológicas celulares y humorales que pueden provocar una reacción anafiláctica (8). Por último se puede mencionar la actividad enzimática de C. albicans como otro factor de virulencia importante de ésta. Se sabe que C. albicans produce exoenzimas tales como la proteinasa, fosfatasa ácida y alcalina, fosfolipasas y lipofosfolipasas, las cuales contribuyen a la invasión e infección (22).

3.7. INMUNOLOGIA

La infección por C. albicans casi siempre se presenta en las deficiencias graves de la inmunidad mediada por células. El síndrome de candidosis mucocutánea crónica es diferente, debido a que la candidosis superficial es por lo general la única manifestación importante de inmunodeficiencia (18).

No se ha visto uniformidad en los defectos inmunológicos de estos pacientes, en ocasiones se han apreciado defectos en la formación de

anticuerpos, pero en la mayoría de casos la inmunidad humoral incluyendo la capacidad para formar anticuerpos específicos contra Candida es normal (18).

En algunos pacientes se ha descrito solamente un defecto inmunológico predisponente a candidosis pero frecuentemente se observa que existe más de uno de éstos; los cuales incluyen:

3.7.1 Respuesta negativa cutánea a todos los antígenos o negativo solamente a C. albicans.

Este grupo puede ser separado en base a la respuesta in vitro así;
a) transformación linfocítica negativa y factor inhibidor de macrófagos positiva. b) Transformación linfocítica positiva y factor inhibidor de macrófagos negativa. c) Transformación linfocítica y factor inhibidor de macrófagos negativos (23).

3.7.2 Deficiencia sérica de inmunoglobulinas salival A (IgA)

3.7.3 Inhibidor plasmático de la transformación de linfocitos (17)

3.7.4 Inhibidor sérico de leucocitos asesinos para C. albicans

3.7.5 Mala respuesta quimiotáctica (23)

3.7.6 Función anormal del complemento

3.7.7 Auto-anticuerpos para una variedad de tejidos

3.7.8 Función anormal de macrófagos

3.7.9 Deficiencia de mieloperoxidasa

También se ha reportado una asociación con deficiencia a mieloperoxidasa y con timoma en pacientes con candidosis mucocutánea crónica (23).

3.7.10 Deficiencia de células T

La candidosis mucocutánea crónica representa un trastorno muy específico de función de células T (1).

De estudios realizados se sabe que la inmunidad celular es de gran importancia en la defensa del hospedero frente a infecciones por Candida (4). Las respuestas a Candida no se desarrollan ni cuando se ha logrado controlar la infección primaria, indicando que el defecto de célula T es primario y no está causado por la presencia de infección crónica (12). Las concentraciones de inmunoglobulinas y las respuestas de anticuerpos a antígenos de Candida son normales o intensas, la actividad de los granulocitos también son normales pero en algunos pacientes se observa un defecto en la función fungicida hacia Candida por los monocitos (12).

Una ejemplo de defecto adquirido en la inmunidad mediada por células es el síndrome de inmunodeficiencia adquirida, (SIDA), caracterizado por una deficiencia notablemente selectiva del número y función de las células T ayudadoras, como consecuencia, estos pacientes son susceptibles a la infección por Candida.

Por ésta razón se ha considerado a la candidosis oral como una manifestación inicial de SIDA (10,24).

Los pacientes con SIDA adquieren la candidosis oral de su microbiota (25). Los cambios en las poblaciones de los linfocitos T asociadas con la infección por HIV parecen volver al paciente vulnerable a desarrollar una candidosis oral. El "trush" es la manifestación más común en todos los pacientes en el curso de la enfermedad (25).

En individuos normales las células T-ayudadoras regulan la activación del microorganismo, evitando su crecimiento desmedido, controlan la proliferación y diferenciación de las células T-efectoras, también regulan la diferenciación de las células B en células secretoras de inmunoglobulinas, por lo tanto su pérdida resulta en una mala producción de inmunoglobulinas contra nuevos antígenos. El HIV también puede infectar a la célula mononuclear presentadora del antígeno destruyendo su función (25).

Se ha detectado Anti-C. albicans IgA en pacientes con candidosis oral, ésta inmunoglobulina, ayuda a prevenir la infección en la mucosa, por inhibición del ataque de C. albicans al epitelio del huésped. Las concentraciones bajas de IgA podrían ser un factor contribuyente a la persistencia de la candidosis oral en pacientes con HIV ya que en ellos la secreción de IgA es baja (25).

Datos experimentales sugieren que los linfocitos T expuestos al antígeno de Candida elaboran mediadores solubles que actúan directamente sobre ésta para reducir la proliferación y germinación de las células fúngicas y previene la expresión de los factores de virulencia del hongo que aumenta la invasión por éste a la mucosa.

Por lo tanto, la ausencia de linfocitos normales ayudan al crecimiento, proliferación y formación de la forma hifal de C. albicans (25). La ausencia de infección sistémica es atribuida a la función normal de polimorfonucleares en éstos pacientes (25).

Algunos casos de candidosis muco-cutánea crónica han sido asociados con una deficiencia de IgA secretoria que es la inmunoglobulina más importante de las mucosas, y se sabe que juega un papel importante en la respuesta inmune humoral en candidosis superficial (26).

Es así como se relaciona el "trush" de los recién nacidos con un retardo en el desarrollo de la síntesis de IgA (26).

Los títulos de anticuerpos contra candida pueden o no incrementarse con la infección (16).

Se ha observado que los anticuerpos IgA, tienen gran importancia en la lucha contra las infecciones superficiales debidas a Candida (26).

La IgA es el factor inmunológico más específico en la saliva y puede ser una defensa primaria contra candidosis (10). Puede funcionar en el ambiente oral por agregación de los organismos y/o prevención a la adherencia del epitelio de la mucosa, ya que se ha demostrado que éste anticuerpo inhibe la adherencia de Candida a la mucosa (16).

A pesar de lo mencionado anteriormente se ha demostrado recientemente que el incremento de títulos de IgA en secreciones de mucosa puede ser insuficiente para prevenir la candidosis oral. Estudios realizados sugieren que sólo una porción del anticuerpo en la saliva humana puede jugar un papel importante en la adherencia a la mucosa (16).

3.8. DIAGNOSTICO

Para realizar el diagnóstico de candidosis, el procedimiento de elección es la demostración de pseudo-hifas en una preparación en fresco y la confirmación mediante el cultivo.

3.8.1 Microscopía Inicial

Debido a que con frecuencia existe Candida en el cuerpo, tanto en la superficie como en mucosas, es necesario demostrar la presencia de formas gemantes y filamentosas en el raspado y biopsia de la lesión en cuestión para poder establecer que la levadura es la causante de la misma (18).

Los raspados deben montarse en un portaobjetos con una gota de KOH 10-20% con un cubreobjetos y calentamiento suave para obtener una película delgada debajo del cubreobjetos. También se puede observar el hongo en frotis teñidos por el método de Gram (7).

En muestras tomadas directamente de la lesión aparecen las especies de Candida como levaduras de pared delgada, pequeñas y ovals en gemación. En ocasiones se encuentran elementos miceliales y células con yemas adheridas a las hifas a nivel de los puntos de constricción (7). La presencia de pseudohifas o hifas verdaderas y levaduras con brotes es indicativo de candidosis invasiva (8).

3.8.2 Cultivo

El material obtenido de la lesión, se siembra en medio sabouraud al que se incorporan antibióticos para inhibir el crecimiento de la microbiota acompañante, pero se ha observado que la cicloheximida

afecta el crecimiento de algunas de las cepas de Candida tropicalis, Candida krusei y C. parapsilosis (7).

Las colonias de Candida sp. se desarrollan en 24-48 horas, a 27°C o a 37°C, son de color crema, opacas, húmedas, elevadas y miden de 1-3mm de diámetro (2).

No se puede distinguir una especie de otra sólo por su aspecto macroscópico (2). Para poder identificar y/o seleccionar las distintas especies se han desarrollado medios especiales, entre ellos el medio Pagano-Levin cuyo fundamento es la reducción de sal de tetrazolio a una forma roja por la liberación de deshidrogenasas, C. tropicalis crece con un color rojo intenso, C. albicans no reduce el tetrazolio y aparece como el color característico de su colonia. C. krusei es similar en color a C. albicans pero su colonia crece seca, rugosa y plana (18).

También se ha desarrollado el agar Bacto-Biggy que tiene bismuto, glicina, glucosa y extracto de levadura, este se incuba de dos a tres días a temperatura ambiente y las colonias son café o negras, lisas con apariencia pastosas (18).

Para realizar la identificación de C. albicans se recurre a las siguientes pruebas:

3.8.2.1 Producción de tubos germinales

Consiste en la formación de tubos germinales, que son filamentos que crecen de las blastosporas o clamidosporas, son la fase inicial del desarrollo de pseudohifas e hifas de la levadura, que pueden penetrar al epitelio, asegurar la permanencia del microorganismo y

permitir su introducción para su desarrollo.

Estos aparecen después de la exposición en suero por 2-4 horas a 37°C (9).

3.8.2.2 Producción de clamidosporas

La producción de clamidosporas en medios adecuados, también es una propiedad usada para la identificación (9).

Se siembra sobre el medio Corn Meal agar, en el que Candida albicans produce clamidosporas y todas las demás especies de Candida elaboran verdadero pseudo micelio (2).

3.8.2.3 Auxonograma de Carbono o Sistema API

Este es en base a la utilización de diferentes azúcares por las levaduras y sirve para la determinación de especies.

3.8.2.4 Pruebas Especiales

Entre éstas se encuentran las pruebas serológicas basadas en una evaluación de anticuerpos contra Candida en días distintos.

Si el título de anticuerpos va aumentando se presume de una infección. Entre las pruebas más usadas están: aglutinación, fijación del complemento, contrainmunolectroforesis, ELISA, inmunofluoresencia, inmunodifusión, inmunolectroforesis bidimensional, RIA, etc (8).

También existen otras tales como biotipificación, electroforesis de proteínas, electroforesis para cariotipos y evaluación de enzimas hidrolíticas (8).

3.9. PRONOSTICO Y TRATAMIENTO

Los tipos localizados de candidosis bucal suelen responder fácilmente al tratamiento, pero la recaída es frecuente, sobre todo cuando se multiplican los factores predisponentes (7).

Como la candidosis es una infección oportunista, el pronóstico depende completamente del tipo y severidad de las condiciones o factores predisponentes (1).

En el diabético, el control de la candidosis depende de una higiene apropiada y regulación de la diabetes. Eliminando ciertos factores como exposición a la humedad o maceración pueden dar solución al problema (1).

La enfermedad crónica, puede ser controlada con terapia pero la condición puede retornar si la terapia se suspende (1).

Los pacientes con HIV e infecciones asociada con Candida son tratados por períodos prolongados con agentes orales antifúngicos azólicos, la exposición por largo tiempo a estos agentes pueden inducir cambios en las cepas de Candida (25).

El tratamiento puede comenzar con terapia local con nistatina o clotrimazol, muchos pacientes responden bien, si este no es el caso debe utilizarse los agentes azólicos orales. La duración del tratamiento no está estandarizado, porque a veces cuando éste se suspende se presentan recaídas. En algunos casos es necesaria una terapia indefinida (25).

Los principales agentes antifúngicos están divididos en dos grupos con respecto a su origen:

3.9.1 Los producidos por microorganismos tales como la nistatina, anfotericina B y griseofulvina (22)

3.9.1.1 Nistatina

Es usada para el tratamiento de candidosis superficiales (piel, boca etc.) o gastroenteritis leves. Sus efectos secundarios son náuseas, y vómitos. No es absorbida por la boca y es tóxica por administración parenteral. La dosis en adultos es de 500,000-1 000,000 de unidades 3-4 veces al día (22).

3.9.1.2 Anfotericina B

Es más efectiva en candidosis sistémica. Su absorción es mínima en el tracto gastrointestinal. La duración del tratamiento es de 6-12 semanas. Produce daño renal, fiebre, náusea, vómitos, anorexia, dolor de cabeza, hipokalemia, depresión de médula ósea y tromboflebitis (22).

3.9.2 Drogas sintéticas como las sulfonamidas, yoduro de potasio, el 5-fluorocitocin y los derivados azólicos (22)

3.9.2.1 5-fluorocitocina

Es usada en candidosis sistémica en pacientes inmunocomprometidos, es absorbido por el intestino y excretado en la orina. Se puede

administrar en forma oral o intravenosamente en 4 dosis con un total de 150mg/kg/día, puede continuarse de 6-8 semanas. Generalmente es bien tolerada pero puede causar hepatotoxicidad, diarrea o depresión de la médula ósea(27). Sin embargo se ha demostrado resistencia por el serotipo A de C. albicans (2).

3.9.2.2 Azoles

El clotrimazol fue el primer imidazol disponible para uso oral, no es usado en el tratamiento de micosis sistémica pero si en la gastroenteritis causada por Candida en pacientes inmunocomprometidos (22).

El miconazol puede ser usado como agente tópico, por vía oral o parenteral. El miconazol oral es pobremente absorbido y puede ser usado en el tratamiento de candidosis del tracto alimenticio. Entre los efectos secundarios se encuentran nauseas, vómitos, prurito, diarrea, hiperlipidemia, hiponatremia y hepatotoxicidad (22).

El ketoconazol es muy efectivo contra candidosis mucocutánea, del tracto gastrointestinal y/o orofaríngea. La dosis recomendada es de 200-800 mg diarios según la severidad de la infección (28).

3.9.2.3 Triazoles

El itraconazol tiene una base sumamente lipofílica con gran afinidad por la doble capa de lipoproteína de la pared de la célula micótica (27). Este ha demostrado ser más activo que el ketoconazol. Está disponible en preparación oral en dosis diarias de 200-400 mg. La

absorción es incompleta, tiene alta afinidad por los tejidos y es excretada por las heces (27).

El fluconazol es un agente soluble en agua a pH fisiológico, provee un tratamiento específico en candidosis sistémica y su potencia es comparable con la anfotericina B y 100 veces más potente que el ketoconazol. La dosis diaria es de 50-400mg dependiendo de la severidad de la infección.

Fue introducido en el tratamiento de pacientes inmunocomprometidos y con SIDA teniendo resultados efectivos en infecciones localizadas en la mucosa. La dosis es de 50-100mg/día por 13 días, en donde los cultivos de los pacientes con candidosis orofaríngea resultaron negativos o con menos de 10 colonias (23,29).

Las lesiones superficiales de la cavidad oral o piel fueron en el pasado tratadas con 1% de solución de violeta genciana pero puede causar necrosis superficial (9).

4. JUSTIFICACIONES

Las deficiencias inmunológicas ya sean del tipo congénito o adquirido son en la mayoría de casos, las causas principales para el establecimiento de infecciones en las que el agente etiológico es un patógeno oportunista.

Entre estas infecciones, se encuentra la candidosis oral, que presenta un alto grado de recurrencia en el hospedero hasta producirle un estado crónico. Los signos y síntomas de ésta infección varían de un paciente a otro, lo cual podría llevar a errores en el diagnóstico sin la ayuda del Laboratorio clínico.

Las infecciones severas por *Candida* eran poco comunes hace algunos años, pero actualmente su prevalencia en la mayoría de hospitales ha ido aumentando de manera directamente proporcional a las deficiencias inmunológicas existentes en el hospedero(30). Por ésta razón, se realizará un estudio epidemiológico que establezca la frecuencia de candidosis oral en pacientes inmunocomprometidos y la especie de *Candida* más frecuentemente aislada en esta enfermedad. Así también se establecerá una correlación entre los resultados de las pruebas utilizadas en el estudio.

Los Médicos han despertado un mayor interés en la presencia de este padecimiento y con frecuencia piden la ayuda del laboratorio clínico. Por medio de este estudio se proveerá de un diagnóstico rápido y correcto para que de ésta forma el Médico pueda dar el tratamiento adecuado, evitando que ésta afección se vuelva crónica o se disemine en todo el organismo del paciente inmunocomprometido, agravando su estado.

5. OBJETIVOS

1. Establecer la frecuencia de candidosis oral en pacientes inmunocomprometidos.
2. Determinar las especies de Candida más frecuentes como causantes de candidosis oral en pacientes inmunocomprometidos.
3. Demostrar estadísticamente la diferencia existente en la prevalencia de Candida entre un grupo de pacientes inmunocomprometidos y un grupo control.

6. HIPOTESIS

Las lesiones de la mucosa oral causadas por Candida albicans son un padecimiento frecuente en pacientes inmunocomprometidos.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1 UNIVERSO

Pacientes de ambos sexos inmunocomprometidos con o sin lesiones de candidosis oral que consultaron al Hospital General San Juan de Dios y al Hospital General de enfermedad común del IGSS.

7.2 MUESTRA

Estuvo constituida por raspados de la mucosa oral tomadas a cien pacientes inmunocomprometidos que consultaron a los Hospitales ya mencionados, y cien pacientes sanos como grupo control.

7.3 RECURSOS

7.3.1 Recursos humanos.

Licda. Heidi Logemann (asesora)

Dra. Patricia Chang (coasesora)

Br. Lorena Arriaza (tesista)

Pacientes

7.3.2 Recursos físicos

Hospital General San Juan de Dios

Hospital General de enfermedad común del IGSS.

Servicio de micología (IGSS policlínica y Fac. de CC. QQ. y farmacia).

7.3.3 Recursos materiales

7.3.3.1 Reactivos y medios.

Solución de hidróxido de Potasio 20%

Tinta azul de parker

Agar Sabouraud

Agar Mycosel con inhibidores

7.4 METODO

7.4.1 Selección de pacientes

Se seleccionaron los pacientes que tuvieran cualquier tipo de inmunosupresión, sin distinción de sexo, edad y nivel socioeconómico, con o sin manifestaciones clínicas de candidosis oral, así también un grupo control de igual número.

7.4.2 Toma de muestras

Se tomaron 3 muestras de cada paciente, raspando la cavidad oral con paletas de madera, independientemente de si tenían o no alguna lesión.

Se tomaron muestras de los dos carrillos, la lengua y el paladar.

7.4.3 Procesamiento de las muestra

Se realizó una observación en fresco con solución de hidróxido de potasio con tinta azul de parker al 20% con el fin de visualizar estructuras fúngicas.

Se sembró cada una de las 3 muestras en agar Mycosel y Sabouraud incubando a 27°C durante 72 horas. Si se observaba crecimiento de alguna colonia sospechosa de Candida, entonces se realizaban las siguientes pruebas:

7.4.3.1 TUBOS GERMINALES

Se inoculó el material sospechoso en 0.5 ml de suero, es importante que el inóculo sea bastante pequeño para evitar resultados falso-negativo.

Se incubó a 37°C durante dos horas 30 minutos. Después se colocó una gota de la suspensión de levaduras en un portaobjetos limpio, se cubre con un cubreobjetos y se examinó con bajo poder en busca de tubos germinales, producidos únicamente por C. albicans (30).

7.4.3.2. SISTEMA API

Se utilizó este sistema para la determinación de especies cuando la prueba anterior fue negativa.

Los pasos a seguir fueron los siguientes: Se rotularon correctamente todas las placas a utilizar.

Se licuó el agar de las ampollas en baño maría y se dejó enfriar hasta 50° C. Los cultivos de los microorganismos a inocular se prepararon en agar Sabouroud dextrosa de 48 horas de crecimiento.

Se inoculó con un aplicador o palillo los microorganismos en el medio, para realizar una suspensión.

Para inocular las tiras se utilizó una pipeta Pasteur estéril llenando cada uno de los pozos de la tira cuidando que no quedaran burbujas.

Se agregó agua al fondo de la placa plástica para mantener un ambiente húmedo y evitar que el inóculo se deshidrate, se cubrió la tira con la tapadera plástica y luego se incubó 72 horas haciendo lecturas a las 24, 48 y 72 horas.

7.5 REPORTE E INTERPRETACION DE RESULTADOS

Los reportes y la interpretación de los resultados se llevó a cabo en tablas para su posterior utilización.

7.6 DISEÑO EPIDEMIOLOGICO

Se realizó un estudio transversal. Las muestras se recolectaron de pacientes del Hospital general San Juan de Dios y el Hospital de Enfermedad Común del IGSS, sin hacer distinción de sexo, edad, ocupación o nivel socioeconómico.

Se utilizaron dos grupos de pacientes, un grupo control y el grupo de pacientes con un diagnóstico previo de inmunosupresión provisto por sus historias clínicas. Se evaluó así si existen o no diferencias, estableciendo la frecuencia de la enfermedad.

Se utilizó hipótesis nula (H_0) e hipótesis de investigación (H_a).

El objetivo principal del estudio fue establecer las especies más

frecuentes de *Candida* en los pacientes inmunocomprometidos. Para esto se agruparon los datos y se realizaron gráficas dejando establecido lo siguiente:

- * Proporción de especies en cada grupo.
- * Porcentaje (frecuencia) de *Candida* sp. en pacientes inmunocomprometidos:
 - Con síntomas
 - Sin síntomas
- * Porcentaje (frecuencia) de *Candida* sp. en el grupo control

El tamaño de la muestra se calculó de la siguiente forma:

p = frecuencia del problema

q = $1-p$

$NC = (95\%) = z$ (área bajo la curva) = 1.96

$LE = 0.1$ (10%)

$$n = \frac{NC^2 pq}{LE^2} \quad \text{asumiendo: } p = 0.5$$

$$q = 0.5$$

$$n = 96.04 \sim 97$$

Se compararon las proporciones del grupo de pacientes con el grupo control.

%P y %C

$$P_1 = \frac{\# \text{ de casos (+) pacientes}}{\text{total pacientes}}$$

$$q_1 = 1-p_1$$

$$P_2 = \frac{\# \text{ de casos (+) control}}{\text{total pacientes}}$$

$$q_2 = 1-p_2$$

$$H_0 = P_1 < P_2$$

$$H_a = P_1 > P_2$$

$$Z = \frac{P_1 - P_2}{\sqrt{\frac{P_1 q_1}{n_1} + \frac{P_2 q_2}{n_2}}}$$

$$n_1 \quad n_2$$

Región de rechazo: NC (95%) a 1 cola $Z_t = 1.645$

Decisión: $Z_c > Z_t$ Se rechaza H_0 .

Además interesó encontrar cuántas veces se aisló más Candida albicans en pacientes inmunocomprometidos o cuánto más estuvo en riesgo un paciente de tener C. albicans u otras especies de Candida cuando tiene una enfermedad predisponente en este caso la inmunosupresión, comparándosele con un grupo asintomático y con cultivos negativos. Para ello se utilizó ODDS RATIO o riesgo relativo.

Puesto que los grupos de comparación estuvo formados antes de que se desarrolle la enfermedad, ciertas formas de prejuicio pueden ser reducidas al mínimo. Un factor importante limitante es la dificultad de seleccionar grupos de comparación que sean representativos de los sectores expuesto y no expuesto de la población general. El uso común de poblaciones no representativas aunque disponibles, técnicamente implica que los resultados obtenidos se refiere sólo a la población estudiada y su generalización a poblaciones más grandes queda sujeta a un juicio biológico o epidemiológico pero no estadístico.

8. RESULTADOS

Se estudiaron 100 pacientes, que presentaron algún factor predisponente, el cual favorecía el establecimiento de candidosis oral. Los pacientes se muestrearon independientemente de si tenían ó no lesión y sin tomar en cuenta sexo, edad o posición socio-económica. También se muestreó a 100 personas sanas como grupo control.

Los diferentes factores predisponentes del grupo de pacientes son los siguientes:

CUADRO # 1

FACTORES PREDISPONENTES	No. Pacientes Muestreados	Cultivos Positivos	%
Transplante Renal	5	5	100
Leucemia	29	18	62.1
Ca pecho	20	11	55
H I V	1	1	100
Artritis	1	1	100
Otros (Tumores, Ca Hodgkin)	41	28	68.3
Transplante Médula Osea	3	2	67.7
T O T A L	100	66	

El 30% de estos pacientes estaba sometido a tratamiento con drogas inmunosupresoras (esteroides) y el 67% era sometido a ciclos de quimioterapia. Como se puede observar, el 100% de los pacientes con transplante renal, tuvieron cultivos positivos a Candida albicans. Así también los pacientes muestreados con artritis y HIV. El 62.1% de los pacientes con leucemia tuvieron cultivos positivos a C. albicans.

Tanto los pacientes como al grupo control se le tomaron 3 muestras, las cuales fueron de lengua, carrillos y paladar, haciéndose microscopía inicial y cultivo a cada muestra, observándose un mayor porcentaje de positividad en los pacientes inmunocomprometidos, como se puede apreciar a continuación:

CUADRO # 2

	CARRILLO	LENGUA	PALADAR
Pacientes Inmunocomprometidos	40	59	40
Grupo Control	15	35	8

El 59% de pacientes tuvo cultivos positivos en lengua, y un 40% fue positivo en carrillos y paladar, a diferencia del grupo control el cual tuvo un 35% de cultivo positivos en lengua, 8% en paladar y 15% en carrillos.

En el siguiente cuadro se puede observar la positividad obtenida en ambos grupos tanto en el KOH como en el cultivo, notándose una mayor positividad en el grupo de pacientes inmunocomprometidos aún cuando la diferencia con respecto al cultivo no fue muy grande.

La identificación de C. albicans de los cultivos positivos tanto del grupo de pacientes inmunocomprometidos como del grupo control se realizó por medio de las pruebas de tubos germinales y API.

CUADRO # 3

	Con Lesión	Sin Lesión	KOH+	KOH-	Cultivo Positivo	Cultivo Negativo
Pacientes Inmunocomprometidos	4	96	36	64	66	34
Grupo Control	0	100	6	94	45	55
T O T A L	4	196	42	100	111	89

Las muestras se sembraron tanto en Mycosel como en Sabouraud, notándose una ligera diferencia entre ambos.

CUADRO # 4

	Crecimiento en		Tubos Germinales		Prueba Apl. Fermentación de Azucares para C. Albicans
	% Mycosel	% Sabouraud	No. Positivo	No. Negativo	
Pacientes Inmuno-comprometidos	38	44	50	16	16
Grupo Control	4.3	13.7	45	0	0

Se puede observar que de los 66 pacientes inmunocomprometidos, 16 fueron negativos a la prueba de tubos germinales, por lo que se les realizó la prueba de API, dando como resultado un patrón de asimilación de azúcares compatible con el patrón designado a Candida albicans. Por lo tanto en los 66 cultivos positivos se aisló Candida albicans.

Por otro lado en el 100% de los pacientes con lesiones se observó y creció Candida albicans.

Según los cálculos obtenidos a partir del diseño estadístico fueron los siguientes:

$$P1 = \frac{66}{100} = 0.66$$

$$P2 = \frac{45}{100} = 0.45$$

$$q1 = 1 - 0.66 = 0.34$$

$$q2 = 1 - 0.45 = 0.55$$

$$H_0 = P1 < P2$$

$$H_a = P1 > P2$$

$$z = \frac{0.66 - 0.45}{\frac{0.66(0.34) + 0.45(0.55)}{100}} = 45$$

$$z_t = 1.645$$

$$z_c = 45$$

$z_c > z_t$ Por lo tanto se rechaza la Hipótesis nula.

	PACIENTES INMUNOCOMPROMETIDOS	GRUPO CONTROL
Cultivos Positivos	66	45
Cultivos Negativos	34	55
T O T A L	100	100

En este estudio, la casualidad de exposición (tiene cultivo positivo) de un paciente es:

$$\frac{66/100}{34/100} = \frac{66}{34} = 1.94$$

La casualidad de que un control se exponga es:

$$\frac{45/100}{55/100} = \frac{45}{55} = 0.82$$

Entonces la razón de riesgo es: $\frac{1.94}{0.82} = 2.36$

La probabilidad de que un paciente inmunocomprometido haya tenido un cultivo positivo es 2.36 mayor que la de un control sin factor inmunológico predisponente (31).

9. DISCUSION DE RESULTADOS

Las infecciones por hongos oportunistas en pacientes inmunocomprometidos, cada vez son más frecuentes, principalmente las causadas por especies del género *Candida*, especialmente *Candida albicans*.

Es importante recordar que *C. albicans* forma parte de la microbiota del tracto digestivo y mucosa vaginal, por lo que su papel como patógeno depende directamente de los factores de inmunosupresión a los que esté expuesto el hospedero. Estos factores contribuyen a que las defensas del hospedero disminuyan, permitiendo la fácil implantación, germinación y desarrollo del hongo en diferentes tejidos, iniciándose de esta forma un proceso patológico, el cual presentará diferentes características, dependiendo del área afectada y del factor de inmunosupresión existente.

El fin primordial de la presente investigación es determinar la prevalencia de *Candida* en pacientes con diferentes factores de inmunosupresión, entre los cuales el 30% estaban recibiendo terapia con esteroides y el 67% eran sometidos a ciclos de quimioterapia (ambas drogas inmunosupresoras) lo que convierte a este grupo de pacientes en un grupo de alto riesgo. La mayoría de pacientes muestreados tenían algún tipo de cáncer. Se puede observar que todo los pacientes pertenecientes al grupo de trasplante renal, artritis y HIV tuvieron cultivos positivos. Los pacientes con leucemia tuvieron cultivos positivos en un 62.1% y los pacientes con cáncer del pecho fueron positivos en un 55%.

En los pacientes estudiados el 36% presentaron tanto levaduras como micelio en la microscopía inicial, mientras en el grupo control únicamente se observaron en un 6%.

Cuando se realiza un análisis micológico de la boca pretendiendo encontrar estructuras fúngicas (micelio y/o levaduras) existe la posibilidad de encontrar levaduras en pacientes sanos, sin embargo cuando se trata de pacientes inmunocomprometidos el porcentaje aumenta, encontrándose además micelio o pseudomicelio, lo que en el caso de *Candida* es indicativo de una invasión inicial del tejido que posteriormente se convertirá en una candidosis.

Del 66% de casos positivos en el examen micológico, únicamente 4 paciente (11%) tenían lesiones características de candidosis oral, a quienes se les observó y aisló *C. albicans*.

Después de cierto tiempo se pudo observar que algunos pacientes, sin lesión pero que tenían cultivos positivos, mostraron las lesiones características de candidosis. Esta observación no fue posible cuantificarla, ya que ciertos pacientes hospitalizados eran dados de alta y no fue posible darles seguimiento. La mayoría fueron muestreados en consultas externas. Los pacientes que sí fueron observados seguían internos por varios días.

Sin embargo esto hace evidente que a pesar que la virulencia de *Candida* sp. es baja, las condiciones propias del hospedero pueden hacer que se desencadene un proceso patológico por lo que a este tipo de pacientes es recomendable que se les administre algún antimicótico profiláctico como medida preventiva.

La especie mas frecuentemente encontrada en la candidosis oral o como reservorio es *C. albicans*, comprobándose por la producción de tubos germinales la cual fue positiva.

La identificación de C. albicans en los pacientes inmunocomprometidos fue positiva en un 66%, pero esto no implica que todos tengan candidosis oral ya que no todos presentaban lesiones características de ésta, sin embargo este grupo se encuentra expuesto en un mayor porcentaje a desarrollar dicha enfermedad durante el tiempo que dure la exposición al factor predisponente.

Respecto a la identificación de Candida se pudo comprobar que tanto los métodos tradicionales como los automatizados son efectivos para la identificación de C. albicans, sin embargo como prueba de tamizaje se pudo comprobar que los métodos tradicionales (tubos germinales) son adecuados y si estas dan negativo o dudoso, se debe recurrir a las pruebas automatizadas que son de un costo más elevado.

10. CONCLUSIONES

- 1- En este estudio, el número de cultivos positivos obtenidos en el grupo de pacientes inmunocomprometidos, no indica que todos tengan candidosis oral, ya que no todos presentaban lesiones características de ésta enfermedad.
- 2- El grupo de pacientes inmunocomprometidos con cultivos positivos a C. albicans, se encuentran expuestos con una mayor porcentaje de riesgo (2.36) a desarrollar dicha enfermedad durante el tiempo que dure la exposición al factor predisponente.
- 3- La frecuencia de cultivo positivos a C. albicans, en el grupo control, indica la presencia de éste microorganismo como parte de la microbiota oral.
- 4- La especie más frecuentemente encontrada como agente etiológico de candidosis oral es C. albicans.
- 5- El área de la cavidad oral donde se aisló C. albicans con mayor frecuencia fué en lengua.
- 6- A los pacientes muestreados con lesiones evidentes se les observó y aisló C. albicans en un 100%.
- 7- Según los resultados se puede deducir que la hipótesis propuesta para ésta investigación se pudo comprobar ya que, se observó un alto número de aislamiento de C. albicans en pacientes inmunocomprometidos, con una razón de riesgo igual a 2.36.
- 8- En esta investigación no se observó frecuencia de lesiones de la mucosa oral en pacientes inmunocomprometidos, pero si se comprobó que estos pacientes están mayormente colonizados por Candida albicans, lo cual puede llevar en un momento específico a que esta colonización se convierta en infección en esta clase de pacientes.

11. RECOMENDACIONES

- 1- Se sugiere realizar cultivos de la cavidad oral a pacientes inmunocomprometidos para diagnosticar candidosis oral tempranamente y así poder evitar el apareamiento de lesiones características y que se disemine a otro sitio anatómico, lo que pone en riesgo la vida del paciente.

- 2- Se debe dar énfasis al diagnóstico y tratamiento de la candidosis oral y la posibilidad que tienen los pacientes inmunocomprometidos de contraerla, ya que ésta es una complicación que sólo viene a agravar el estado del paciente.

- 3- Se recomienda tomar muestras de carrillos ya que aquí hay una mayor diferencia de aislamiento entre los pacientes inmunocomprometidos y el grupo control.

12. REFERENCIAS

1. Rippon JW. Medical Mycology; The pathogenic fungi and the pathogenic Actinomycetes. United States of America: W.B. Saunders company Philadelphia, London, Toronto, 1974. X + 587p. (p. 175-202).
2. Pumarola A. et al. Microbiología y parasitología médica España: Edit. Salvat S.A., 1984. (p. 733-739).
3. Sobel JD, Myers PG, Kaye D. and Levison ME. Adherence of Candida albicans to human vaginal and buccal epithelial cells. The journal of infectious Diseases 1981; 143: 76-82.
4. Trounce JR. Folb PI. Immunological aspects of Candida infection complicating steroid and immunosuppressive drug therapy. The Lancet 1970; 2: 1112-1114.
5. Rytel MW, Mogabgab WJ. Manual de Enfermedades infecciosas. México D.F.: Nueva Editorial Interamericana, 1986. XVI + 546p. (p.318-320).
6. Lachman PJ, Gell PGH, Coombs RR. Clinical aspects immunology. 3ed. Gran Bretaña: Blackwell Scientific publication, 1975. XXIV + 1365 p. (p. 1399-1404).
7. Conant NF. et al. Micología. 3ed. México: Editorial interamericana, 1971.

XI + 592p. (p. 442-451).

8. Quevedo JC. Identificación, biotipificación y determinación de factores de virulencia de Candida albicans. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia). 1992. 77p.
9. Nolte WA. Oral Microbiology; with basic microbiology an immunology. 3ed. Saint Louis: The C.V. mosby company, 1977. X + 638p. (p. 442-451).
10. Wynngaarden JB, Smith LH. Cecil. Tratado de medicina interna. 17a ed. México: Nueva Editorial Interamericana, 1987. XXXV +2621p. (p.1975-1978, 2525, 1653) Tomo II.
11. Robbins SL, Angell M, Kumar V. Patología humana. 3ed. México: Editorial Interamericana, 1988. XIV + 703p. (p. 414).
12. Bellanti JA. Inmunología. 3ed. Philadelphia Saunders, 1978. XIII + 813p. (p. 359-360 y 547-548).
13. Logemann H, Torres MF, Gini GA. Manual de Normas y Procedimientos en Microbiología Médica. Guatemala: Instituto Guatemalteco de Seguridad Social (IGSS), 1985 219 p.
14. Stewart D, Danto JL, Maddin S. Dermatology; Diagnosis and treatment of cutaneous disorders. 4ed. Saint Louis: The CV. mosby company, 1978. XI +

621 p. (p. 280-287).

15. King RD. Adherence of Candida albicans and other Candida species to mucosal epithelial cells. Infect. and immunity 1980; 27: 667-674.
16. Epstein JB, Truelove EL, Itzuzu KT. Oral Candidiasis: Pathogenesis and Host defense. Rev. of infect. Diseases 1984; 6: 96-102.
17. Kimura LH, Pearsall NN. Relationship between germination of C. albicans and increased Adherence to Human buccal epithelial cells. Infect. and Immun 1980; 28: 464-468.
18. Harrison T. et al. Principios de medicina interna. 10a ed. México: McGraw Hill, 1986. XXXIII + 3088p. (p1477-1488).
19. Normal and deficiente Host defence mechanisms in fungal infections. Pfizer international. Doc. tec. 1988. 32p.
20. McNamara MP. et al. Neutrophil death as a defence mechanism against C. albicans infections. The Lancet 1988; 1163-1165.
21. Sohnle PG, Collins-Lench C. Comparison of candidacidal and candidastatic activities of Human Neutrophils. Infect. and Immun 1990; 58: 2696-2697.
22. Opportunistic fungal infection: Focus on Fluconazol. New York. R.G. Richardson published Royal Society of medicine services. Doc. tec.

23. Sams MW. Chronic Mucocutaneous candidiasis; immunologic studies of three generations of a single family. The American journal of medicine 1979, 67: 948-958.
24. Klein RS, et al. Oral candidiasis in high risk patients as the initial manifestation of the acquired immunodeficiency syndrome. The new England journal of Medicine 1984; 9: 354 - 358.
25. Symposium Topics in Mycology. Mycoses in AIDS patients. París. The Pasteur Institute. Doc tec. 1989.
26. Subbi M. et al. Antibodies to Candida albicans in IgA deficient Humans. The journal of infect. diseases 1977; 136:436-438.
27. Hughes WT. et al. Ketoconazole and candidiasis: A controlled study. The journal of infect. deiseases 1983; 147: 1060-1063.
28. Evaluación clínica del itraconazol en la terapia antimicótica con esquemas fijos de tratamiento. Sporanox (itraconazol) Janssen Farmacéutica. Doc.tec. 1989. 40p.
29. Diflucan (fluconazol) Depto. Médico de Pfizer, S.A. Copyright Pfizer C.A. Doc. tec. 1990. 33p.
30. Koneman EW, Roberts GD. Practical Laboratory Mycvology. 3ed. Baltimore Chapel Hill. 1985: XI+211p.

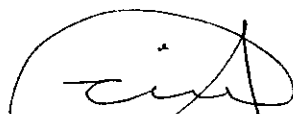
31. Sauder BD, Trapp RG. Bioestadística Médica. 3 ed. México Editorial el Manual Moderno, 1990. XV + 380p. (p.65).



Br. Lorena Beatriz Arriaza Hernández
Autor



Licda. Heidi E. Logemann
Asesora



Lic. Gerardo Arroyo Catalán
Director de Escuela



Lic. Jorge Rodolfo Pérez Folgar
Decano