

Candida en la cavidad oral de pacientes con VIH en Cali, Colombia: determinación de especies y sensibilidad al fluconazol

Luz Ángela Castro¹, María Inés Álvarez², Ernesto Martínez³

RESUMEN

Introducción: *Candida albicans* es la levadura aislada con mayor frecuencia de la cavidad oral de individuos VIH positivos. El uso del fluconazol ha incrementado el aislamiento de especies de *Candida* diferentes de *C. albicans* resistentes o con sensibilidad disminuida a este antimicótico.

Objetivo: establecer, en individuos VIH positivos de un hospital de la ciudad de Cali, las especies de *Candida* de la cavidad oral, su densidad poblacional y la sensibilidad al fluconazol de aquellas diferentes de *C. albicans*.

Materiales y métodos: las muestras se sembraron en *CHROMagar Candida* y se hizo el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC); se identificaron las levaduras con el *API 20C Aux* y se hicieron las pruebas de sensibilidad al fluconazol con el Etest.

Resultados: se estudiaron 230 pacientes y hubo 202 aislamientos: 106 fueron únicos y 96, mixtos. *C. albicans* fue la especie más frecuente, seguida por *C. dubliniensis* y *C. glabrata*. Las especies diferentes de *C. albicans* predominaron en los recuentos menores de 400 UFC/mL. El estudio de sensibilidad al fluconazol de las especies diferentes de *C. albicans* mostró que 14 (40 %) fueron sensibles dosis-dependientes y 7 (20 %), resistentes.

Conclusión: en la población estudiada, la cavidad oral está colonizada por aislamientos no salvajes, lo que representa un riesgo para el desarrollo de candidiasis orofaríngea resistente al tratamiento con fluconazol.

PALABRAS CLAVE

Candida; Cavidad Oral; Fluconazol; Recuento de Linfocitos CD4; VIH

¹ Profesora Asociada, Escuela de Bacteriología y Laboratorio Clínico, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

² Profesora Titular, Departamento de Microbiología, Universidad del Valle, Cali, Colombia.

³ Profesor Asistente, Departamento de Medicina Interna, Universidad del Valle. Especialista en enfermedades infecciosas, Hospital Universitario del Valle Evaristo García ESE, Cali, Colombia.

Correspondencia: Luz Ángela Castro; luz.castro@correounivalle.edu.co

Recibido: septiembre 06 de 2014

Aceptado: octubre 21 de 2014

Cómo citar: Castro LA, Álvarez MI, Martínez E. *Cándida* en la cavidad oral de pacientes con VIH en Cali, Colombia: determinación de especies y sensibilidad al fluconazol. *Iatreia*. 2015 Oct-Dic;28(4):(368-377). DOI 10.17533/udea.iatreia.v28n4a02.

SUMMARY

Candida in the oral cavity of HIV-infected patients: Identification of species and susceptibility to fluconazole in Cali, Colombia

Introduction: *Candida albicans* is the most frequently isolated yeast from the oral cavity of HIV-infected individuals. The use of fluconazole has increased the number of resistant or less-sensitive *Candida* species different from *C. albicans*, to this antifungal agent.

Objective: To establish the *Candida* species present in the oral cavity of HIV-infected individuals at a hospital in Cali (Colombia), their population densities, and the susceptibility to fluconazole of species different from *C. albicans*.

Materials and methods: Samples were cultured in CHROMagar *Candida* and the number of colony forming units (CFU) was counted. Yeast identification was done with API 20C Aux, and the susceptibility tests to fluconazole, by Etest.

Results: 230 patients were studied, and 202 isolates were obtained: 106 single and 96 mixed. *C. albicans* predominated, followed by *C. dubliniensis* and *C. glabrata*. *Candida* species other than *C. albicans* predominated in counts lower than 400 CFU/mL. Susceptibility study to fluconazole of species different from *C. albicans* showed that 14 (40 %) of the isolates were susceptible dose-dependent and 7 (20 %), resistant.

Conclusion: In the studied population, the oral cavity was colonized by non-wild type isolates that represent a risk for the development of oropharyngeal candidiasis resistant to fluconazole treatment.

KEY WORDS

Candida; CD4 Lymphocyte Count; Fluconazole; HIV; Oral cavity

RESUMO

Candida na cavidade oral de pacientes com HIV: determinação de espécies e sensibilidade ao fluconazol em Cali, Colômbia

Introdução: *Candida albicans* é o fermento isolado com maior frequência da cavidade oral de indivíduos HIV positivos. O uso do fluconazol incrementou o

isolamento de espécies de *Candida* diferentes de *C. albicans* resistentes ou com sensibilidade diminuída a este antimicótico.

Objetivo: estabelecer, em indivíduos HIV positivos de um hospital da cidade de Cali, as espécies de *Candida* da cavidade oral, sua densidade populacional e a sensibilidade ao fluconazol daquelas diferentes de *C. albicans*.

Materiais e métodos: as mostras se semearam em CHROMagar *Candida* e se fez a recontagem de unidades formadoras de colônias (UFC); identificaram-se os fermentos com o API 20C Aux e se fizeram as provas de sensibilidade ao fluconazol com o Etest.

Resultados: estudaram-se 230 pacientes e teve 202 isolamentos: 106 foram únicos e 96, mistos. *C. albicans* foi a espécie mais frequente, seguida por *C. dubliniensis* e *C. glabrata*. As espécies diferentes de *C. albicans* predominaram nas recontagens menores de 400 UFC/ML. O estudo de sensibilidade ao fluconazol das espécies diferentes de *C. albicans* mostrou que 14 (40 %) foram sensíveis doses-dependentes e 7 (20 %), resistentes. Conclusão: na população estudada, a cavidade oral está colonizada por isolamentos não selvagens, o que representa um risco para o desenvolvimento de candidíase orofaríngea resistente ao tratamento com fluconazol.

PALAVRAS CHAVES

Candida; Cavidade Oral; Fluconazol; Recontagem de Linfócitos CD4; HIV

INTRODUCCIÓN

Candida spp., es una levadura que forma parte de la microbiota normal de la cavidad oral en 2 % a 71 % de los individuos sanos (1). La transición de comensal a patógeno oportunista ocurre en pacientes con recuentos de linfocitos T CD4⁺ por debajo de 200/μL como sucede en la infección por el virus de inmunodeficiencia humana (VIH), que favorece el desarrollo de candidiasis orofaríngea en más de 90 % de los individuos en algún momento de la evolución de la enfermedad (2).

Candida albicans es la especie que se aísla con más frecuencia de la cavidad oral, pero también se forman otras especies como *C. glabrata*, *C. tropicalis*,

C. krusei, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* y *C. dubliniensis* (3). El uso frecuente del fluconazol, antimicótico efectivo y de baja toxicidad, en la profilaxis y tratamiento de la candidiasis, ha favorecido el desarrollo de resistencia en *C. albicans* y el aumento de la colonización por especies como *C. glabrata* y *C. krusei* usualmente menos sensibles a esta droga (4). Se ha propuesto el recuento de especies de *Candida* en la cavidad oral menor de 400 unidades formadoras de colonias (UFC) por mL como indicador de sobrecrecimiento de levaduras sin evidencia de enfermedad (5,6).

Varios autores en diferentes países han estudiado la colonización oral por *Candida* spp., en individuos infectados por el VIH (2,7,8). En Colombia se han publicado tres artículos relacionados con *Candida* spp., en la cavidad oral de pacientes VIH/sida (9-11), pero solo uno de ellos fue sobre colonización (9).

El propósito de esta investigación fue determinar en individuos infectados por VIH sin lesiones en la mucosa oral las especies de *Candida* de este sitio y sus densidades poblacionales medidas en UFC/mL, y establecer la sensibilidad al fluconazol en los aislamientos de especies diferentes de *C. albicans*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se llevó a cabo un estudio descriptivo prospectivo en individuos infectados por VIH diagnosticados por pruebas de ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) y confirmados por *Western blot*, sin lesiones en la cavidad oral. Se los incluyó estuviesen o no recibiendo fluconazol. Todos los pacientes participaron de manera voluntaria y firmaron el consentimiento informado en presencia de dos testigos. De cada participante se obtuvieron los datos de edad, sexo, tiempo de diagnóstico del VIH, tratamiento con antirretrovirales y profilaxis con fluconazol; el valor de linfocitos T CD4⁺ de los últimos seis meses se transcribió de la historia clínica. La investigación fue aprobada por los comités de ética de la Facultad de Salud de la Universidad del Valle y del Hospital Universitario del Valle (HUV), en Cali, Colombia.

Las muestras se tomaron entre enero y diciembre del 2008 en el HUV con la técnica de enjuague oral (5), que consistió en suministrar a cada paciente 10 mL de

buffer fosfato salino (PBS; pH 7,2; 0,1 M) que mantuvo en la boca por 60 segundos y depositó luego en un recipiente estéril. Del enjuague se sembraron 100 μ L en *CHROMagar Candida* (CHROMagar Company, París, Francia) y se incubaron a 37 °C por 48 horas; después se contaron las UFC/mL de enjuague.

La identificación preliminar de las levaduras y especies de *Candida* se inició con la observación del color de las colonias (12). A los aislamientos de colores diferentes a las tonalidades de verde se les hizo el *API 20C Aux* (BioMérieux; Marcy-l'Etoile, Francia). A las colonias verdes, presuntivas de *C. albicans/C. dubliniensis*, se les efectuaron pruebas fenotípicas que incluyeron la formación de tubos germinales, la producción de clamidosporas en *Corn Meal Tween 80 agar* (Oxoid, UK), el crecimiento a 42 °C y 45 °C en agar Sabouraud dextrosa 2 % (Merck, Alemania) y a 25 °C en agar Sabouraud con cloruro de sodio al 6,5 % (13). Los aislamientos identificados como *C. dubliniensis* por estos procedimientos se confirmaron con *API 20C Aux* (13). Como controles para las diferentes pruebas se utilizaron *C. albicans* ATCC 14053 y un aislamiento conocido de *C. dubliniensis*.

La concentración inhibidora mínima (CIM) del fluconazol con el Etest® (AB Biodisk, Solna, Suecia) se determinó solo para los aislamientos diferentes de *C. albicans*, según las instrucciones del fabricante; además, se determinaron la CIM capaz de inhibir el 50 % y el 90 % de los aislamientos (CIM₅₀ y CIM₉₀), pero la CIM₉₀ no se determinó en las especies con menos de 10 aislamientos. La cepa utilizada como control de calidad fue *C. parapsilosis* ATCC 22019 (14).

De acuerdo con la CIM, los aislamientos se clasificaron como sensibles (S), sensibles dosis-dependientes (SDD) o resistentes (R) para el fluconazol, según los nuevos puntos de corte clínicos (CBP, *Clinical Breakpoints*) específicos para *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. glabrata* establecidos por el CLSI (*Clinical Laboratory Standards Institute*) (14). Para las especies menos comunes a las que aún no se les han establecido los CBP específicos se presenta la CIM. De acuerdo con el CLSI, los aislamientos de *C. krusei* se consideraron resistentes independientemente de la CIM obtenida (14). Además, se utilizaron los valores de corte epidemiológicos específicos de especie (ECV, *Epidemiological Cutoff Values*) para discriminar los aislamientos de *Candida* en los de tipo salvaje (que no presentan

resistencia adquirida ni mutaciones, CIM \leq ECV), y los de tipo no salvaje (organismos con resistencia adquirida o mutaciones, CIM $>$ ECV) (15).

Análisis estadístico

Para el análisis de los datos se utilizó el programa estadístico SPSS versión 15.0 (SPSS Inc., Chicago IL). La información demográfica y clínica se presenta como medidas de tendencia central y dispersión, frecuencias absolutas y porcentajes. Se establecieron la frecuencia de *Candida* spp., y su relación con los linfocitos T CD4⁺. De acuerdo con el recuento de estos, los pacientes se estratificaron en cuatro grupos: 100 o menos, 101-200, 201-350 y más de 350/ μ L. El recuento

de colonias (UFC/mL) se organizó en dos categorías: menor de 400 y 400 o más; además, se determinaron el porcentaje de sensibilidad al fluconazol y los ECV. Se hizo la prueba Chi cuadrado de Pearson y se consideró estadísticamente significativo un valor p menor de 0,05.

RESULTADOS

Se estudiaron 230 pacientes, 147 (63,9 %) hombres y 83 (36,1 %) mujeres, con rango de edad entre 18 y 60 años y media de 36,7. En la tabla 1 se presentan las características demográficas y clínicas en relación con la presencia o ausencia de levaduras; no se encontró asociación estadística en las variables analizadas.

Tabla 1. Características demográficas y clínicas de los 230 pacientes y su relación con la presencia o ausencia de levaduras

Variable	Levaduras		p
	Presentes (n = 150)	Ausentes (n = 80)	
Edad en años (media) + DE*	(37) \pm 10	(36) \pm 10	0,201
18-28 (%)	40 (26,7)	21 (26,3)	
29-39 (%)	53 (35,3)	33 (41,2)	
40-50 (%)	36 (24,0)	22 (27,5)	
51-60 (%)	21 (14,0)	4 (5,0)	
Sexo			0,745
Hombre (%)	97 (64,7)	50 (62,5)	
Mujer (%)	53 (35,3)	30 (37,5)	
Terapia antirretroviral			0,219
Sí (%)	66 (44,0)	42 (52,5)	
No (%)	84 (56,0)	38 (47,5)	
Fluconazol			0,210
Sí (%)	27 (18,0)	20 (25,0)	
No (%)	123 (82,0)	60 (75,0)	
Tiempo de diagnóstico de VIH en años (media) + DE*	(2) \pm 3	(2) \pm 2	0,203
0-5 meses (%)	47 (31,3)	19 (23,7)	
6-11 meses (%)	19 (12,7)	11 (13,7)	
1-3 años (%)	46 (30,7)	35 (43,8)	
Más de 3 años (%)	38 (25,3)	15 (18,8)	

*DE = desviación estándar

De los 230 pacientes, 150 (65,2 %) presentaron levaduras, de ellos, 106 (70,7 %) tuvieron solo un aislamiento y en 44 (29,3 %) hubo dos o más (cultivos

mixtos), para un total de 202 aislamientos; de estos últimos, 96 (47,5 %) provenían de los 44 cultivos mixtos (tabla 2).

Tabla 2. Distribución de los aislamientos mixtos de levaduras en la cavidad oral de pacientes infectados por VIH

Combinación de levaduras	Aislamientos n (%)
<i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i>	22 (22,9)
<i>C. albicans</i> + <i>C. dubliniensis</i>	20 (20,8)
<i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i>	6 (6,2)
<i>C. albicans</i> + <i>C. famata</i>	4 (4,2)
<i>C. albicans</i> + <i>C. colliculosa</i>	2 (2,1)
<i>C. albicans</i> + <i>C. guilliermondii</i>	2 (2,1)
<i>C. albicans</i> + <i>C. krusei</i>	2 (2,1)
<i>C. albicans</i> + <i>Kloechera</i> spp.	2 (2,1)
<i>C. albicans</i> + <i>S. cerevisiae</i>	2 (2,1)
<i>C. dubliniensis</i> + <i>C. glabrata</i>	2 (2,1)
<i>C. dubliniensis</i> + <i>C. famata</i>	2 (2,1)
<i>C. dubliniensis</i> + <i>C. guilliermondii</i>	2 (2,1)
<i>C. dubliniensis</i> + <i>C. parapsilosis</i>	2 (2,1)
<i>C. parapsilosis</i> + <i>C. guilliermondii</i>	2 (2,1)
<i>C. tropicalis</i> + <i>C. rugosa</i>	2 (2,1)
<i>C. albicans</i> + <i>C. dubliniensis</i> + <i>C. krusei</i>	3 (3,1)
<i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i> + <i>C. tropicalis</i>	3 (3,1)
<i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i> + <i>C. krusei</i>	3 (3,1)
<i>C. albicans</i> + <i>C. parapsilosis</i> + <i>C. famata</i>	3 (3,1)
<i>C. albicans</i> + <i>C. parapsilosis</i> + <i>Cr. laurentii</i>	3 (3,1)
<i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i> + <i>C. colliculosa</i>	3 (3,1)
<i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i> + <i>C. tropicalis</i> + <i>C. parapsilosis</i>	4 (4,2)
Total	96 (100,0)

Cr: *Cryptococcus*. S: *Saccharomyces*

Las especies aisladas con mayor frecuencia fueron *C. albicans* (125/202; 61,9 %), *C. dubliniensis* (18/202; 8,9 %) y *C. glabrata* (16/202; 7,9 %). De los 106 aislamientos únicos, 87 (82,1 %) fueron de *C. albicans*, seguida por *C. parapsilosis* (5), *C. dubliniensis* (3), *Saccharomyces cerevisiae* (3), *C. tropicalis* (2), *C. famata* (2), *C. glabrata* (1), *C. krusei* (1), *C. colliculosa* (1) y *Ustilago* spp. (1). *C. albicans* fue la especie más

frecuente tanto en aislamiento único como en combinación con dos o más levaduras.

De los 150 pacientes con levaduras, 27 (18 %) tenían profilaxis con fluconazol, y en ellos se obtuvieron 31 aislamientos del género *Candida*, mientras que en los 123 (82 %) sin este antimicótico hubo 164 aislamientos de dicho género. De los 31 aislamientos

expuestos al fluconazol, 16 (51,6 %) fueron de *C. albicans* y 15 (48,4 %), de otras especies; por otra parte, de los 164 aislamientos sin exposición al antimicótico 109 (66,5 %) correspondieron a *C. albicans* y 55 (33,5 %) a otras especies. No hubo relación estadísticamente significativa entre el aislamiento de *C. albicans* y el de otras especies de este género con el uso de fluconazol ($p = 0,114$). En los individuos con exposición al azol, fue seguida por *C. glabrata* (16,1%) y *C. parapsilosis* (12,9 %). En los pacientes sin este medicamento fueron *C. dubliniensis* (9,8 %) y *C. glabrata* (6,7 %). Además, en este grupo se presentaron los aislamientos correspondientes a *Saccharomyces* spp., *Cryptococcus laurentii*, *Kloeckera* spp., y *Ustilago* spp.

El perfil de sensibilidad in vitro al fluconazol de los 15 aislamientos de *Candida* diferentes de *C. albicans* que habían sido expuestos a este medicamento fue el siguiente: *C. dubliniensis* 2 S y 1 R; *C. glabrata* 4 SDD y 1 R; *C. krusei* 1 SDD y 1 R; *C. famata* 1 S y *C. parapsilosis* 2 S y 2 SDD. En la tabla 3 se presentan el perfil de sensibilidad in vitro al fluconazol, los ECV y

los porcentajes de los aislamientos de tipo no salvaje para las especies de *Candida* no *albicans*; a la luz de los ECV específicos, 22 de las 60 especies (36,7 %) estuvieron dentro de la población no salvaje; estos valores no se determinaron para *C. famata*, *C. colliculosa* y *C. rugosa* porque para estas especies aún no se han establecido.

En 120 pacientes se obtuvo el recuento de linfocitos T CD4⁺ (rango 11 a 791/ μ L, media 268,7 \pm 185/ μ L). En 75 de estas personas los cultivos para hongos fueron positivos y sus recuentos de linfocitos T CD4⁺ fueron de 15 a 791/ μ L (media 279,5 \pm 197,6/ μ L). *C. albicans*, *C. dubliniensis* y *C. tropicalis* estuvieron presentes en todos los rangos de linfocitos T CD4⁺ mientras que *C. glabrata* se encontró con mayor frecuencia (8/9 aislamientos) en pacientes con valores por debajo de 136/ μ L ($p = 0,0037$); el 87,5 % (7/8) de estos aislamientos coexistieron con más de una levadura. No hubo diferencia significativa entre el recuento de linfocitos T CD4⁺ de 200/ μ L o menos y la presencia de levaduras ($p = 0,505$).

Tabla 3. Perfil de sensibilidad al fluconazol y ECV para las especies de *Candida* aisladas en la cavidad oral de pacientes infectados por VIH

Especie (No. de aislamientos)	CIM (μ g/mL)			Aislamientos n (%)			ECV (mg/mL)	Aislamientos n (%)
	Rango	50 ^a	90 ^a	S	SDD	R		
<i>C. glabrata</i> (16)	0,125 - >256	12	256	NA	11 (68,8)	5 (31,2)	8	8 (50)
<i>C. parapsilosis</i> (10)	0,38 - 12	1,0	12	6 (60)	3 (30)	1 (10)	1	4 (40)
<i>C. tropicalis</i> (9)	0,125 - >256	0,38	-	8 (88,9)	0 (0)	1 (11,1)	1	1 (11,1)
<i>C. krusei</i> (4)	24 - >256	256	-	-	-	-	32	3 (75)
<i>C. dubliniensis</i> (18)	0,047 - >256	0,19	>256	-	-	-	0,5	6 (33,3)
<i>C. guilliermondii</i> (3)	0,38 - 8,0	1,5	-	-	-	-	8	0 (0)
Otras especies^c (10)	0,125 - 4,0	0,38	0,40	-	-	-	-	-

^aCIM capaz de inhibir el 50 % y 90 % de los aislamientos; ^bAislamientos de tipo no salvaje; ^cIncluye *C. famata*, *C. colliculosa* y *C. rugosa*.

Abreviaturas: CIM, concentración inhibitoria mínima. ECV: valores de corte epidemiológico. S: sensible. SDD: sensible dosis-dependiente. R: resistente. NA: no aplica

El recuento de colonias reveló datos muy variables entre 10 y 160.000 UFC/mL, con una mediana de 750 UFC/mL. De los 150 pacientes con aislamiento de levaduras, 78 (52 %) tuvieron recuentos por debajo de

400 UFC/mL, y en este grupo predominaron las especies de *Candida* diferentes de *C. albicans*, excepto *C. glabrata* (62,5 %) que se aisló con mayor frecuencia en pacientes con recuentos de 400 UFC/mL o más.

DISCUSIÓN

La inmunodeficiencia producida por el VIH incrementa la colonización oral por diversas especies de *Candida* y el riesgo de desarrollar candidiasis orofaríngea. En este estudio, la prevalencia de colonización por levaduras fue 65,2 %, similar a la informada por Gugnani y colaboradores (16). Otros autores, con la técnica del enjuague oral, obtuvieron resultados entre 35 % y 87 % (2,7). En investigaciones cuyas muestras se han tomado con escobillón se informan valores muy variables entre 44 % y 93,4 % (2). Algunos autores sugieren que el método más sensible es el enjuague oral debido a que permite la cuantificación de *Candida* (2,17).

En la población estudiada, aunque los hombres presentaron mayor frecuencia de levaduras, no se encontró asociación con el sexo, como tampoco con la edad ni con la terapia antirretroviral, como se ha observado en investigaciones previas (2,16).

Candida albicans es un comensal ubicuo que predomina en la cavidad oral (1); en esta investigación se encontró que 61,9 % de los aislamientos fueron de esta especie, similar a lo hallado en otros estudios de individuos infectados por VIH (2,3,16). Esta levadura, por tener mayor capacidad de adherencia a las células del epitelio bucal, incrementa su presencia como colonizador y patógeno oportunista en individuos con infección VIH (1).

Se ha descrito un aumento en la frecuencia de los aislamientos de especies de *Candida* diferentes de *C. albicans* (2,16); en este trabajo se obtuvo un porcentaje de 34,6 %. Otros autores han informado cifras entre 5 % y 64,2 % (2,7). El aumento de estas levaduras lo han atribuido al amplio uso del fluconazol para prevenir la candidiasis oral en individuos infectados por VIH, lo que posiblemente favorece la colonización por especies menos sensibles a este triazol (18), pero en esta investigación solo 31 (15,9 %) de los 195 aislamientos del género *Candida* fueron de pacientes que recibieron profilaxis con el antimicótico y de ellos 16 correspondieron a *C. albicans* y 15, a otras especies. Ello sugiere que la presencia de especies de *Candida* diferentes de *C. albicans* en la cavidad oral puede estar influenciada por otros factores tales como: gravedad de la inmunosupresión, xerostomía, composición de la saliva, higiene oral, prótesis dental, fumar, dieta rica en

carbohidratos, deficiencias nutricionales y diabetes mellitus (1).

La especie de *Candida* diferente de *C. albicans* aislada con mayor frecuencia fue *C. dubliniensis* que está relacionada filogenéticamente con *C. albicans* y cuya identificación precisa requiere técnicas moleculares (19) o la utilización de más de una prueba fenotípica (13). Los estudios de colonización por *C. dubliniensis* en individuos seropositivos para VIH con la técnica del enjuague oral han hallado tasas de prevalencia entre 0,7 % y 8,4 % (7,16) y, en pacientes con sida y candidiasis orofaríngea, entre 0,3 % y 32 % (20-24). Igualmente, se la ha encontrado en pacientes con fibrosis quística, cáncer y diabetes (13,25). En este trabajo 11 (61,1 %) de los 18 aislamientos de *C. dubliniensis* coexistieron con *C. albicans* como lo han informado otros autores (7,23). *Candida glabrata* es una levadura emergente en la mucosa oral de pacientes inmunocomprometidos, que se encuentra como aislamiento único o acompañada por *C. albicans* (26). En el presente estudio fue la segunda especie no *albicans* aislada con mayor frecuencia, similar a lo reportado por Hamza y colaboradores (20) y la mayoría de los aislamientos fueron con *C. albicans*. La presencia de *C. glabrata*, se relaciona con el uso profiláctico del fluconazol que ejerce una presión selectiva y favorece la aparición de aislamientos resistentes (4), pero en esta investigación solo 5 (31 %) de los 16 pacientes con *C. glabrata* estuvieron expuestos al antimicótico. También se encontró que de los 120 pacientes con recuentos de linfocitos T CD4⁺, nueve presentaron *C. glabrata* y 8 (88,9 %) de estos fueron individuos con recuentos por debajo de 136/ μ L, lo que podría indicar que el grado de inmunosupresión contribuye al sobrecrecimiento de esta especie; tales resultados son similares a los de un estudio previo efectuado en esta misma ciudad en 11 pacientes VIH/sida con candidiasis pseudomembranosa y *C. glabrata*, 9 (81,8 %) de los cuales presentaron linfocitos T CD4⁺ de 100/ μ L o menos (11). No se encontraron datos en la literatura que analicen la relación del aislamiento de esta especie con el recuento de linfocitos T CD4⁺.

En el presente trabajo 44 (29,3 %) de los 150 individuos positivos para levaduras tuvieron cultivos mixtos. Otros autores han informado tasas de prevalencia de dichos cultivos entre 21,3 % y 48,9 % (2,7,16). La presencia de más de una especie de *Candida* en la cavidad oral de individuos con VIH eleva el riesgo de

desarrollar candidiasis oral, especialmente por levaduras que muestran mayor resistencia al fluconazol como *C. krusei* y *C. glabrata* (4).

Es importante resaltar que el uso de medios cromógenos como el *CHROMagar Candida* aumenta la posibilidad de detectar diferentes especies de *Candida* en los especímenes clínicos (12). En este estudio, la mayoría de las especies diferentes de *C. albicans* se presentaron mezcladas con otras levaduras (tabla 2), que no se hubieran podido detectar sin el uso de este medio.

Se ha estudiado el recuento de UFC de *Candida* para definir un rango que permita establecer la diferencia entre colonización y enfermedad (5,6), y se ha propuesto que valores por debajo de 400 UFC/mL son indicadores de colonización. Sin embargo, los resultados de este estudio y de otros (2) no permiten establecer puntos de corte que delimiten el rango de UFC de *Candida* para considerar que se trata de una colonización. Por esta razón, se sugiere hacer cultivos seriados y si se presentara un incremento en la UFC sería posible predecir el desarrollo de candidiasis orofaríngea (27).

En concordancia con otras publicaciones (2,7), no encontramos asociación entre la presencia de levaduras y el recuento de linfocitos T CD4⁺. En nuestro estudio solo se tuvo información de los linfocitos T CD4⁺ en 120 de los 230 pacientes (52,2 %), por lo que estos datos no permiten sacar una conclusión.

La mayoría de los aislamientos de *C. dubliniensis* fueron sensibles al fluconazol, como se ha evidenciado en otros trabajos (8,28,29). Se ha demostrado que esta especie tiene la capacidad de desarrollar resistencia rápidamente, pero en este estudio, de los cinco aislamientos resistentes de *C. dubliniensis* solo uno había estado expuesto al antimicótico, lo que sugiere que la resistencia puede presentarse sin el antecedente de exposición al azol (30).

Candida glabrata se caracteriza por su resistencia al fluconazol (26). En este estudio se encontró, de acuerdo con los ECV, que el 50 % de los aislamientos desarrollaron resistencia como se ha reportado en otros trabajos (26). Los nuevos CBP para esta especie no incluyen en la actualidad la categoría de sensible, lo que hace necesarias las pruebas de sensibilidad para determinar la CIM.

Se sabe que *C. krusei* es intrínsecamente resistente al fluconazol y está asociada a fracasos terapéuticos (2). El CLSI (14) no ha establecido criterios de interpretación para esta levadura por lo que un aislamiento sensible se debe considerar resistente independientemente del valor de la CIM. Tres de los cuatro aislamientos de esta especie en este estudio coexistieron con una o dos especies de *Candida*, como se ha descrito previamente (8).

Candida parapsilosis es un patógeno emergente (31) y se la ha encontrado como causa de candidiasis seudomembranosa (11). En la actualidad forma parte de un complejo de tres especies (*C. parapsilosis sensu stricto*, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*); en este trabajo no se hizo tal diferenciación porque el método de identificación utilizado no permite discriminar entre estas especies. De este complejo se ha informado que *C. metapsilosis* se encuentra con mayor frecuencia en la cavidad oral, y que *C. orthopsilosis* presenta una disminución de la sensibilidad al fluconazol (31). Será necesario en futuros estudios hacer procedimientos que permitan diferenciar el complejo para conocer más sobre la epidemiología de las especies de esta levadura en la cavidad oral.

Los ECV son una medida que permite determinar la resistencia emergente a los antimicóticos entre las especies de *Candida* (32). Con su aplicación se encontró en este trabajo que la mayoría de las especies fueron de tipo no salvaje, excepto *C. guilliermondii* de la cual todos los aislamientos fueron sensibles al fluconazol a semejanza de lo encontrado en otras investigaciones (3,33); sin embargo, se considera que esta levadura es un patógeno emergente con sensibilidad disminuida a este antimicótico (34).

Los resultados de esta investigación muestran que la cavidad oral, en la población estudiada, se encuentra colonizada por una variedad de levaduras especialmente del género *Candida*, incluyendo aislamientos de tipo no salvaje que representan un riesgo para desarrollar candidiasis orofaríngea resistente al fluconazol.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores manifiestan no tener conflicto de intereses.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ruhnke M. Skin and mucous membrane infections. In: Calderone RA, editor. *Candida and Candidiasis*. 2^a ed. Washington: ASM Press; 2002. p. 307-25.
2. Li X, Lei L, Tan D, Jiang L, Zeng X, Dan H, et al. Oropharyngeal *Candida* colonization in human immunodeficiency virus infected patients. *APMIS*. 2013 May;121(5):375-402.
3. Nweze EI, Ogbonnaya UL. Oral *Candida* isolates among HIV-infected subjects in Nigeria. *J Microbiol Immunol Infect*. 2011 Jun;44(3):172-7.
4. Walmsley S, King S, McGeer A, Ye Y, Richardson S. Oropharyngeal candidiasis in patients with human immunodeficiency virus: correlation of clinical outcome with in vitro resistance, serum azole levels, and immunosuppression. *Clin Infect Dis*. 2001 Jun;32(11):1554-61.
5. Zhu HW, McMillan AS, McGrath C, Li LS, Samaranayake LP. Oral carriage of yeasts and coliforms in stroke sufferers: a prospective longitudinal study. *Oral Dis*. 2008 Jan;14(1):60-6.
6. Epstein JB, Pearsall NN, Truelove EL. Quantitative relationships between *Candida albicans* in saliva and the clinical status of human subjects. *J Clin Microbiol*. 1980 Sep;12(3):475-6.
7. Erköse G, Erturan Z. Oral *Candida* colonization of human immunodeficiency virus infected subjects in Turkey and its relation with viral load and CD4+T-lymphocyte count. *Mycoses*. 2007 Nov;50(6):485-90.
8. Luque AG, Biasoli MS, Tosello ME, Binolfi A, Lupo S, Magaró HM. Oral yeast carriage in HIV-infected and non-infected populations in Rosario, Argentina. *Mycoses*. 2009 Jan;52(1):53-9.
9. Gutiérrez C, De Bedout C, Tobón AM, Cano LE, Arango M, Tabares AM, et al. Sensibilidad a fluconazol y voriconazol de aislamiento de *Candida* spp., obtenidos de aislamientos de mucosa oral de pacientes con sida. *Infectio*. 2007;11(4):183-9.
10. Mendoza N, Arora A, Motta A, Arias C. Prevalence of oral candidiasis in the HAART era in developing countries: A cohort from Colombia. *J Am Acad Dermatol*. 2008;58(2 Suppl 2):AB94.
11. Castro LÁ, Álvarez MI, Martínez E. Pseudomembranous candidiasis in HIV/AIDS patients in Cali, Colombia. *Mycopathologia*. 2013 Feb;175(1-2):91-8.
12. Hospenthal DR, Murray CK, Beckius ML, Green JA, Dooley DP. Persistence of pigment production by yeast isolates grown on CHROMagar *Candida* medium. *J Clin Microbiol*. 2002 Dec;40(12):4768-70.
13. Loreto ES, Scheid LA, Nogueira CW, Zeni G, Santurio JM, Alves SH. *Candida dubliniensis*: epidemiology and phenotypic methods for identification. *Mycopathologia*. 2010 Jun;169(6):431-43.
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. M27-S4. Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts. CLSI. 2012 Dec; 32 Suppl 4:1-23.
15. Espinel-Ingroff A, Pfaller MA, Bustamante B, Canton E, Fothergill A, Fuller J, et al. Multilaboratory study of epidemiological cutoff values for detection of resistance in eight *Candida* species to fluconazole, posaconazole, and voriconazole. *Antimicrob Agents Chemother*. 2014 Apr;58(4):2006-12.
16. Gugrani HC, Becker K, Fegeler W, Basu S, Chattopadhyaya D, Baveja U, et al. Oropharyngeal carriage of *Candida* species in HIV-infected patients in India. *Mycoses*. 2003 Sep;46(8):299-306.
17. Samaranayake LP, MacFarlane TW, Lamey PJ, Ferguson MM. A comparison of oral rinse and imprint sampling techniques for the detection of yeast, coliform and *Staphylococcus aureus* carriage in the oral cavity. *J Oral Pathol*. 1986 Aug;15(7):386-8.
18. Masiá Canuto M, Gutiérrez Rodero F, Ortiz de la Tabla Ducasse V, Hernández Aguado I, Martín González C, Sánchez Sevillano A, et al. Determinants for the development of oropharyngeal colonization or infection by fluconazole-resistant *Candida* strains in HIV-infected patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2000 Aug;19(8):593-601.
19. Pfaller MA, Woosley LN, Messer SA, Jones RN, Castanheira M. Significance of molecular identification and antifungal susceptibility of clinically significant yeasts and moulds in a global antifungal surveillance programme. *Mycopathologia*. 2012 Oct;174(4):259-71.
20. Hamza OJ, Matee MI, Moshi MJ, Simon EN, Mugusi F, Mlax FH, 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 Microbiol*. 2008 Aug;8:135.

21. Baradkar VP, Kumar S. Species identification of *Candida* isolates obtained from oral lesions of HIV infected patients. *Indian J Dermatol*. 2009 Oct-Dec ;54(4):385-6.
22. Katirae F, Khosravi AR, Khalaj V, Hajiabdolbaghi M, Khaksar A, Rasoolinejad M, et al. Oropharyngeal candidiasis and oral yeast colonization in Iranian human immunodeficiency virus positive patients. *J Mycol Méd*. 2010 Mar;20(1):8-14.
23. Coleman DC, Sullivan DJ, Bennett DE, Moran GP, Barry HJ, Shanley DB. Candidiasis: the emergence of a novel species, *Candida dubliniensis*. *AIDS*. 1997 Apr;11(5):557-67.
24. Chunchanur SK, Nadgir SD, Halesh LH, Patil BS, Kausar Y, Chandrasekhar MR. Detection and antifungal susceptibility testing of oral *Candida dubliniensis* from human immunodeficiency virus-infected patients. *Indian J Pathol Microbiol*. 2009 Oct-Dec;52(4):501-4.
25. Suárez BL, Álvarez MI, de Bernal M, Collazos A. *Candida* species and other yeasts in the oral cavities of type 2 diabetic patients in Cali, Colombia. *Colomb Méd*. 2013 Mar;44(1):26-30.
26. Li L, Redding S, Dongari-Bagtzoglou A. *Candida glabrata*: an emerging oral opportunistic pathogen. *JDR*. 2007 Mar;86(3):204-15.
27. Vargas KG, Joly S. Carriage frequency, intensity of carriage, and strains of oral yeast species vary in the progression to oral candidiasis in human immunodeficiency virus-positive individuals. *J Clin Microbiol*. 2002 Feb;40(2):341-50.
28. Giammanco GM, Pecorella S, Distefano S, Pecoraro V, Milici ME, Pizzo G. Fluconazole susceptibility of Italian *Candida dubliniensis* clinical isolates determined by reference and simplified tests. *New Microbiol*. 2001 Oct;24(4):397-404.
29. Pinjon E, Moran GP, Jackson CJ, Kelly SL, Sanglard D, Coleman DC, et al. Molecular mechanisms of itraconazole resistance in *Candida dubliniensis*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003 Aug;47(8):2424-37.
30. Moran GP, Sullivan DJ, Henman MC, McCreary CE, Harrington BJ, Shanley DB, et al. Antifungal drug susceptibilities of oral *Candida dubliniensis* isolates from human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected subjects and generation of stable fluconazole-resistant derivatives *in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997 Mar;41(3):617-23.
31. Moris DV, Melhem MS, Martins MA, Souza LR, Kacew S, Szesz MW, et al. Prevalence and antifungal susceptibility of *Candida parapsilosis* complex isolates collected from oral cavities of HIV-infected individuals. *J Med Microbiol*. 2012 Dec;61(Pt 12):1758-65.
32. Jang MJ, Shin JH, Lee WG, Kim MN, Lee K, Lee HS, et al. *In vitro* fluconazole and voriconazole susceptibilities of *Candida* bloodstream isolates in Korea: use of the CLSI and EUCAST epidemiological cutoff values. *Ann Lab Med*. 2013 May;33(3):167-73.
33. Rodriguez Costa C, Aquino de Lemos J, Sena Passos X, Rodriguez de Araújo C, Cohen AJ, Hasimoto e Souza LK, et al. Species distribution and antifungal susceptibility profile of oral *Candida* isolates from HIV-infected patients in the antiretroviral therapy era. *Mycopathologia*. 2006 Jul;162(1):45-50.
34. Pfaller MA, Diekema DJ, Mendez M, Kibbler C, Erzsebet P, Chang SC, et al. *Candida guilliermondii*, an opportunistic fungal pathogen with decreased susceptibility to fluconazole: geographic and temporal trends from the ARTEMIS DISK antifungal surveillance program. *J Clin Microbiol*. 2006 Oct;44(10):3551-6.

