



UNIVERSIDAD ANDINA "SIMON BOLIVAR"

SEDE CENTRAL

Sucre – Bolivia

PROGRAMA DE MAESTRIA EN FARMACOLOGIA BASICA Y CLINICA

**FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA RESISTENCIA DE *Cándida spp.* A
FLUCONAZOL Y VORICONAZOL UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO DE
CANDIDIASIS SUBPROTESICA, EN ADULTOS MAYORES PORTADORES DE
PROTESIS DENTAL QUE RESIDEN EN EL HOGAR 25 MAYO,SUCRE 2012**

Tesis presentada para obtener el Grado
Académico de Magister en Farmacología Básica y Clínica

Alumna: María Luisa De la Cruz Claire

Sucre – 2013



UNIVERSIDAD ANDINA "SIMON BOLIVAR"

SEDE CENTRAL

Sucre – Bolivia

**PROGRAMA DE MAESTRIA/ DIPLOMASUPERIOR DE ESPECIALIDAD EN
FARMACOLOGIA BASICA Y CLINICA**

**FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA RESISTENCIA DE *Cándida spp.* A
FLUCONAZOL E VORICONAZOL UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO DE
CANDIDIASIS SUBPROTESICA, EN ADULTOS MAYORES PORTADORES DE
PROTESIS DENTAL QUE RESIDEN EN ASILO 25 MAYO,SUCRE 2012**

Tesis presentada para obtener el Grado
Académico de Magister en Farmacología Básica y Clínica

Alumna: María Luisa De la Cruz Claire

Asesora. Ms.Cs. Ph. D.(c) María Teresa Ulloa Flores

Dra. Cristina Iovannitti

Sucre – 2013

AGRADECIMIENTOS

✚ A Dios

*Por ser mi guía, la fuerza y
El camino para seguir adelante hasta alcanzar mi objetivo*

✚ *A mi familia por su apoyo moral y desinteresado.*

✚ *A todo el plantel Docente y Administrativo*

*De la Universidad Andina Simón Bolívar Sede Sucre Bolivia
Por su experiencia y orientación profesional.*

✚ *A mis asesoras*

*Por su orientación, paciencia y sus conocimientos.
Por su amistad y sabiduría*

✚ *A mis compañeros*

*Por su amistad, por compartir sus experiencias
Y vivencias a lo largo del curso*

RESUMEN

En los residentes del “Hogar 25 de Mayo” una de las infecciones frecuentes de la cavidad oral es la candidiasis subprotésica caracterizada por un enrojecimiento persistente de los tejidos gingivales, preferentemente palatina en portadores de prótesis dentales.

En el tratamiento farmacológico de la candidiasis subprotésica se emplean frecuentemente, antimicóticos azólicos como el fluconazol. El servicio odontológico del Hogar 25 de Mayo, reportó la falla del tratamiento con fluconazol en algunos residentes con candidiasis subprotésica. Estudios realizados en otros países, evidencian el surgimiento de resistencia de *Cándida* no albicans a antimicóticos, en pacientes inmunodeprimidos. Esta situación determinó la formulación del siguiente problema: ¿Cuáles son los factores de riesgo más frecuentes asociados a la resistencia de *Cándida* spp a fluconazol y voriconazol utilizados en el tratamiento de candidiasis subprotésica en adultos mayores portadores de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, Sucre 2012?

El objetivo del presente estudio fue: Determinar los factores de riesgo más frecuentes asociados a la resistencia de *Cándida* spp a fluconazol y voriconazol en el tratamiento de candidiasis subprotésica en adultos mayores portadores de prótesis dental.

La investigación tuvo un *enfoque cuantitativo, de tipo observacional, analítico y transversal*. Las técnicas para determinar la susceptibilidad de las cepas de *Cándida* spp, que colonizan los tejidos gingivales de los adultos mayores, correspondió a la: técnica de difusión en agar o fungigrama y Concentración Inhibitoria Mínima (CIM), cuyos resultados fueron interpretados según los puntos de corte del CLSI (M44-A2 Vol.29Nº.17, agosto 2009) y Concentración Inhibitoria Mínima (M27-A3, M38-A y M44-A) respectivamente. Se determinó en los adultos mayores el grado de desnutrición, anemia, diabetes, neoplasia, hábitos higiénicos, edad y la especie de *Cándida*. Se aisló con mayor frecuencia *Cándida albicans* 46,2%, seguida de *Cándida glabrata* 28,8%, *Cándida tropicalis* 13,5%, *Cándida parasilopsis* 9,6% y *Cándida krusei* 1,9%.

La asociación de resistencia de *Cándida* spp a fluconazol y especie de *Cándida* spp resultó ser un factor de riesgo estadísticamente significativo. De las especies identificadas *Cándida glabrata* constituye un factor de riesgo y *Cándida albicans* un factor de protección para la portación de cepas resistentes al antimicótico en adultos

mayores del “Hogar 25 de Mayo”. Por otro lado, el 100% de todas las especies de *Candida spp* fueron sensibles al voriconazol. Los resultados obtenidos permitirán orientar el tratamiento farmacológico odontológico de las candidiasis asociadas a la portación de prótesis dentales.

ABSTRACT

In the home May 25 resident's one of the big infections of the oral cavity frequent candidiasis is characterized subprosthetic persistent redness of the gums, palate preferably in dental prostheses.

The pharmacological treatment of candidiasis is commonly employed subprosthetic, azole antifungals such as fluconazole. The dental service of Home May 25, reported treatment failure with fluconazole in some residents subprosthetic candidiasis. Studies in other countries show the emergence of resistance of *Candida albicans* to antifungal not, in immunocompromised patients. This situation led to the formulation of the following problem: What are the risk factors associated with *Candida* spp resistance to fluconazole and voriconazole used in the treatment of candidiasis subprosthetic in elderly patients with dentures that reside in the "Home May 25 "Sucre 2012?

The aim of this study was to determine the risk factors most frequently associated with the resistance of *Candida* species to fluconazole and voriconazole in the treatment of candidiasis subprosthetic in elderly patients with dental prostheses.

The study was a quantitative, observational, analytical and crosses. Techniques for determining the susceptibility of *Candida* spp strains, which colonize the gingival tissues of older adults, corresponded to: agar diffusion method or fungigrama and minimum inhibitory concentration (MIC), the results were interpreted as points cut CLSI (M44-A2 Vol.29N ° 17, August 2009) and Minimum Inhibitory Concentration (M27-A3, M38-A and M44-A) respectively. We determined the degree of malnutrition, anemia, diabetes, neoplasia, hygienic habits, age and species of *Candida*. It most frequently isolated *Candida albicans* 46.2%, followed by 28.8% *Candida glabrata*, *Cándida tropicalis* 13, 5%, 9.6% *Candida parasilopsis* and *Candida krusei* 1.9%.

The strength of association of fluconazole and *Candida* spp species of *Candida* spp proved to be a significant risk factor. Of the identified species *Candida glabrata* is a risk factor and *Candida albicans* a protective factor for the carrying of resistant strains of fungi in seniors' home on May 25. " Furthermore, 100% of all *Candida* species were susceptible to voriconazole spp. The results will help guide the pharmacological treatment dental candidiasis associated with dentures porting

2.1.4. Resistencia.....	33
2.1.4.1. Resistencia antifúngica.....	33
2.1.4.2. Métodos empleados para identificar la resistencia de la <i>Cándida spp</i> a los azoles.....	38
2.1.5. Factores de riesgo asociados a la presencia de resistencia a los azoles.	42
2.1.6. HIPÓTESIS	49
2.2. MARCO CONTEXTUAL.....	50
2.2.1. Contexto político, social y económico	50
2.2.2. Contexto demográfico y estrategias de salud para los adultos mayores bolivianos.....	51
2.2.3. Antecedentes del "Hogar 25 de Mayo".	53
CAPITULO III	59
3. MARCO METODOLOGICO.....	59
3.1. ENFOQUE DE LA INVESTIGACION.....	59
3.2. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACION.....	59
3.2. POBLACION Y MUESTRA.....	59
3.3. VARIABLES DE ESTUDIO.....	60
3.3.1. Variables dependientes.....	60
3.3.2. Variables independientes.....	60
3.3.3. Conceptualización, operacionalización, categorización e instrumentalización.....	60
3.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.....	62
3.4.1. Criterios de inclusión.....	62
3.4.2. Criterios de exclusión.....	62
3.5. PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN	62
3.5.1. Instrumento.....	62
3.5.2. Procedimientos y técnicas para la recolección de la información.....	63
3.5.2.1. Examen clínico de tejidos gingivales, toma de muestra y pruebas de susceptibilidad para <i>Cándida spp</i>	63
3.5.2.2. Determinaciones bioquímicas sanguíneas.....	68
3.7. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS.....	68
3.8. DELIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN	69

CAPÍTULO IV.....	71
4. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS DESCRIPTIVOS Y ANALÍTICOS	71
4.1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS DESCRIPTIVOS.....	71
4.2. RESULTADOS DE DOBLE ENTRADA.....	82
4.2.1. Perfil de susceptibilidad del fluconazol.....	82
4.3. ANÁLISIS BIVARIADO	91
4.2.2. Perfil de susceptibilidad del voriconazol.....	98
4.4. DISCUSIÓN.....	99
4.3.2.1. Resistencia <i>Cándida spp</i> a fluconazol y factores predisponentes	101
CAPÍTULO V.....	110
CAPÍTULO V.....	111
5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	111
5.1. CONCLUSIONES.....	111
5.2. RECOMENDACIONES.....	112
BIBLIOGRAFIA.....	113
ANEXOS	123

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 1 Patio Principal de “Hogar 25 de Mayo”	54
Figura N° 2 Imagen de la Virgen María, primer patio “Hogar 25 Mayo”	55
Figura N° 3 Jardines del primer patio del “Hogar 25 de Mayo”	56
Figura N° 4 Consultorio dental “Hogar 25 Mayo”	57
Figura N° 5 Examen microscópico de <i>Cándida spp</i> en preparados húmedos.....	20
Figura N° 6 Examen microscópico de <i>Cándida spp</i> en preparados tintoriales	20
Figura N° 7 Examen microscópico de clamidosporas y pseudohifas <i>Cándida</i>	21
Figura N° 8 Cultivo de <i>Cándida</i> en Medio CHROMagar	23
Figura N° 9 Candidiasis subprotésica en reborde gingival en arcada inferior	63
Figura N° 10 Obtención de placa adherida a la prótesis	63
Figura N° 11 Cultivo de placa bacteriana adherida en superficies protéticas en agar Sabouraud, para <i>Cándida albicans</i>	64
Figura N° 12 Observación macrososcópica del medio Cromagar	64
Figura N° 13 Observación microscópica de los tubos germinativos característicos de <i>Cándida albicans</i>	65
Figura N° 14 Procesamiento del Fungigrama empleando los discos de fluconazol y voriconazol.	66
Figura N° 15 Valoración del perfil de susceptibilidad del fluconazol	67
Figura N° 16 Efecto del crecimiento irregular de la <i>Cándida spp</i> en el interior del halo de inhibición.....	67

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 1 Distribución de personas de la tercera edad portadores de prótesis dentales removibles que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según sexo. Sucre 2012	71
Tabla N° 2 Distribución de adultos de la tercera edad portadores de prótesis dental removible que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según grupo etario.	72
Tabla N° 3 Frecuencia de prácticas de hábitos higiénicos aplicados en prótesis removibles de personas de la tercera edad. “Hogar 25 de Mayo”,	73
Tabla N° 4 Distribución de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de anemia, diabetes, desnutrición y neoplasias Sucre 2012	74
Tabla N° 5 Distribución de personas de la tercera edad que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de levaduras en tejidos gingivales que soportan la prótesis dental removible Sucre 2012	75
Tabla N° 6 Distribución de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de candidiasis subprotésica - Sucre 2012	76
Tabla N° 7 Frecuencia de especies de <i>Cándida spp</i> aisladas de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental. “Hogar 25 de Mayo”, Sucre 2012	77
Tabla N° 8 Distribución de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según grado de candidiasis subprotésica - Sucre 2012	78
Tabla N° 9 Resistencia de <i>Cándida spp</i> a fluconazol y voriconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, Sucre 2012	79
Tabla N° 10 Resultados obtenidos por Pruebas de Susceptibilidad –Fungigrama- de <i>Cándida spp</i> a fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según especie Sucre 2012	80
Tabla N° 11 Resultados de las pruebas de Susceptibilidad Fungigrama de <i>Cándida spp</i> a voriconazol aisladas de de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según especie <i>Cándida spp</i> Sucre 2012	81
Tabla N° 12 Resistencia de <i>Cándida spp</i> al fluconazol aislada de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según sexo. Sucre 2012	82

Tabla N° 13 Resistencia de la <i>Cándida spp</i> al fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según grupo etéreo. Sucre 2012	83
Tabla N° 14 Resistencia de <i>Cándida spp a fluconazol</i> aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental del “Hogar 25 de Mayo”, según especie de <i>Cándida spp</i> . Sucre 2012.....	84
Tabla N° 15 Resistencia de <i>Cándida spp</i> a fluconazol aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, grado de candidiasis subprotésica. Sucre 2012.....	85
Tabla N° 16 Resistencia de la <i>Cándida spp</i> al fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según hábitos higiénicos para remover el biofilm de las superficies protésicas. Sucre 2012	86
Tabla N° 17 Resistencia de <i>Cándida spp a fluconazol</i> aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según grados de desnutrición. Sucre 2012.....	87
Tabla N° 18. Resistencia de <i>Cándida spp a fluconazol</i> aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de anemia. Sucre 2012.....	88
Tabla N° 19 Resistencia de <i>Cándida spp a fluconazol</i> aisladas de prótesis dentales de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de diabetes. Sucre 2012	89
Tabla N° 20 Resistencia de <i>Cándida spp a fluconazol</i> aisladas de prótesis dentales de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según neoplasias. Sucre 2012	90

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico N° 1 Distribución de adultos de la tercera edad portadores de prótesis dental removible que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según sexo Sucre 2012	71
Gráfico N° 2 Distribución de personas de la tercera edad portadores de prótesis dental removible que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según grupo etario, Sucre 2012	72
Gráfico N° 3 Frecuencia de prácticas de hábitos higiénicos aplicados en prótesis removibles de personas de la tercera edad. “Hogar 25 de Mayo”, Sucre 2012.....	73
Gráfico N° 4 Distribución de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de anemia, diabetes, desnutrición y neoplasias	74
Gráfico N° 5 Distribución de personas de la tercera edad que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de levaduras en tejidos gingivales que soportan la prótesis dental removible Sucre 2012	75
Gráfico N° 6 Distribución de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de candidiasis subprotésica Sucre 2012.....	76
Gráfico N° 7 Frecuencia de especies de <i>Cándidas spp</i> aisladas de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental. “Hogar 25 de Mayo”, Sucre 2012.....	77
Gráfico N° 8 Distribución de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según grado de candidiasis Sucre 2012.....	78
Gráfico N° 9 Resistencia de <i>Cándida spp</i> a fluconazol y voriconazol aisladas de de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”. Sucre 2012.....	79
Gráfico N° 10 Resultados obtenidos mediante pruebas de Susceptibilidad – Fungigrama- de <i>Cándida spp</i> a fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según especie Sucre 2012	80
Gráfico N° 11 Resultados de las pruebas de susceptibilidad Fungigrama de <i>Cándida spp</i> a voriconazol aisladas de de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según especie <i>Candida spp</i> . Sucre 2012	81
Gráfico N° 12 Resistencia de <i>Cándida spp</i> al fluconazol aislada de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según sexo. Sucre 2012.....	82
Gráfico N° 13 Resistencia de la <i>Cándida spp</i> al fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según grupo etáreo . Sucre 2012	83

Gráfico N° 14 Resistencia de <i>Cándida</i> spp a fluconazol en cepas aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dentales de del “Hogar 25 de Mayo”, según especie de <i>Cándida</i> spp. Sucre 2012	84
Gráfico N° 15 Resistencia de <i>Cándida</i> spp a fluconazol aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, grado de candidiasis subprotésica Sucre 2012.....	85
Gráfico N° 16 Resistencia de la <i>Cándida</i> spp al fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según hábitos higiénicos para remover el biofilm de las superficies protésicas. Sucre 2012	86
Gráfico N° 17 Resistencia de <i>Cándida</i> spp a fluconazol aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según grados de desnutrición. Sucre 2012.....	87
Gráfico N° 18 Resistencia de <i>Cándida</i> spp al fluconazol aisladas de adultos portadores de prótesis dentales del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de anemia. Sucre 2012.....	88
Gráfico N° 19 Resistencia de <i>Cándida</i> spp a fluconazol aisladas de prótesis dentales de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de diabetes. Sucre 2012	89
Gráfico N° 20 Perfil de Sensibilidad del fluconazol en cepas de <i>Cándida</i> aisladas de prótesis dentales de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de neoplasias. Sucre 2012.....	90

INDICE DE CUADROS

Cuadro N°1 Resistencia de <i>Cándida spp al fluconazol</i> aislada de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según sexo. Sucre 2012.....	80
Cuadro N°2 Resistencia de la <i>Cándida spp</i> al fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según grupo etéreo . Sucre 2012.....	81
Cuadro N°3 Resistencia de <i>Cándida spp</i> a fluconazol en cepas aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dentales de del “Hogar 25 de Mayo”, según especie de <i>Cándida spp</i> . Sucre 2012.....	82
Cuadro N°4 Resistencia de <i>Cándida spp</i> a fluconazol aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, grado de candidiasis subprotésica. Sucre 2012.....	85
Cuadro N°5 Resistencia de la <i>Cándida spp</i> al fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según hábitos higiénicos para remover el biofilm de las superficies protésicas. Sucre 2012.....	87
Cuadro N°6 Resistencia de <i>Cándida spp a fluconazol</i> aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según grados de desnutrición. Sucre 2012.....	89
Cuadro N° 7 Resistencia de <i>Cándida spp a fluconazol</i> aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de anemia. Sucre 2012.....	90
Cuadro N°8 Resistencia de <i>Cándida spp a fluconazol</i> aisladas de prótesis dentales de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de diabetes. Sucre 2012.....	94

CAPÍTULO I

CAPÍTULO I

1. INTRODUCCION

La candidiasis subprotésica es una patología frecuente de la mucosa en los adultos mayores que residen en el “Hogar 25 de Mayo”. En un estudio realizado en el 2010 en 70 pacientes de este Hogar, se evidenció que el 53% de las superficies gingivales examinadas en los adultos mayores manifestaba algún grado de dicha patología, caracterizada por áreas de inflamación local o difusa, edema, y/o tejido hiperplásico, asociada al área de soporte biológico de estos aparatos protésicos. A la candidiasis subprotésica, se le reconoce una etiología multifactorial: trauma asociado al desajuste de prótesis, hábitos higiénicos regulares (39%) malos (32%), uso permanente de la prótesis en boca (sin remoción nocturna), enfermedades crónicas (neoplasias en algunos casos) y estado nutricional deficiente, entre los mas relevantes. Todos estos factores predisponen al desarrollo y colonización de las superficies protésicas por levaduras como la especie *Cándida albicans* en este grupo humano ¹.

La presencia de la placa dental en la superficie de las dentaduras, es el factor predisponente más importante en el desarrollo de la candidiasis subprotésica. La placa comienza a colonizarse frecuentemente por *C. albicans* y en menor porcentaje *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parasilosis* y *C. glabrata*², las cuales en asociación con factores predisponentes dependientes del hospedero, como la presencia de estado de inmunodepresión, anemia, desnutrición, diabetes, entre otros favorecen la infección. El tratamiento farmacológico habitual incluye Nistatina y Azoles administrados por vía oral y tópica, por un periodo de 14 días o hasta dos días después de la remisión de los síntomas.

El estudio de las cepas de *Cándida spp* obtenidos de los rebordes gingivales de adultos mayores portadores de prótesis dental residentes en el “Hogar 25 de Mayo” realizados en el 2010¹ determinó la presencia de un 91 % de *C. albicans* y un 8,6% de *Cándida sp*. El tratamiento empleado habitualmente en este asilo es el fluconazol, sin embargo, el médico asistencial del Hogar reportó que frente a la ausencia de remisión de la candidiasis subprotésica en 2 casos, se asoció a un antifúngico tópico y se obtuvo un resultado efectivo sólo en uno de ellos.¹.

La detección de cepas de *Cándida* spp resistente a los antimicóticos de uso habitual es un problema emergente y muy grave. Ha sido evidenciado por distintos estudios realizados en diversos países del mundo, de los cuales se mencionan los siguientes:

Estudios realizados sobre la resistencia de *Candida* spp a fármacos azólicos

Un estudio realizado por Ceballos A. et al 1999 en Granada España determinó la susceptibilidad “*in vitro*” a los antimicóticos de uso clínico más habitual de aislamientos clínicos de *Cándida* procedentes de pacientes infectados por el VIH o con SIDA, teniendo en cuenta si padecían o no candidiasis oral. Para ello, se examinó la presencia de *Cándida* spp en muestras de cavidad oral en 307 pacientes, las cepas se aislaron e identificaron por métodos convencionales. La sensibilidad a anfotericina B, nistatina, fluconazol, itraconazol y ketoconazol, se determinó por difusión en agar empleando tabletas Neo-Sensitabs® (Rosco Diagnóstica, Dinamarca). Se obtuvieron 135 aislamientos de *Cándida albicans* (91 del serotipo A, 38 del serotipo B, 3 *C. albicans* variedad stellatoidea y 3 aislamientos no fueron tipificados), 3 *C. krusei* y 2 *C. glabrata*. Ninguno de los 140 aislamientos de *Cándida* spp presentó resistencia a nistatina o anfotericina B. Sin embargo, se observaron resistencias *in vitro* al fluconazol en el 7,9% de los aislamientos y en un 2,9% de los mismos a ketoconazol e itraconazol. Casi todos los aislamientos de *C. krusei* y *C. glabrata*, el 31% de los aislamientos de pacientes con candidiasis y el 20% de los de pacientes colonizados por *Cándida* mostraron una sensibilidad disminuida a los azoles. Este estudio evidencia que la presencia de resistencia a los azoles no es un problema tan reciente y requiere su monitorización para generar nuevas pautas de tratamiento farmacológico en la candidiasis oral ³

El Estudio de susceptibilidad *in vitro* realizado de diciembre 2004 a septiembre 2010 realizado en el Laboratorio de Microbiología de la Pontificia Universidad Católica de Chile a 239 aislados de *Candida spp* para fluconazol y 257 para voriconazol aisladas de pacientes hospitalizados y ambulatorios con un predominio leve de 60 años, donde se evaluaron diversas especies como *C. Albicans* (n: 110; 38%), *C. Glabrata* (n: 89; 30%), *C. Tropicalis* (n: 33; 11%), *C. Parapsilosis* (n: 30; 10%), *C. Krusei* (n: 12; 4%) y otras (n: 19; 7%). La especie que presentó con menor porcentaje de sensibilidad fue *C. Glabrata* (30,3%) y la especie 100% resistente fue *C. Krusei* (resistencia natural). La resistencia a voriconazol se evidenció fundamentalmente en *C. glabrata* (11,5%).⁴

El estudio realizado en Caracas evidenció que cepas de *Cándida spp* aisladas de candidiasis oral fueron sensibles dosis dependiente en un 6,3% y 20,6% resistente al fluconazol y las cepas resistentes correspondían a *C. albicans* y *C. Krusei*².

Otro estudio elaborado, en el 2007 el hospital La María en Medellín Colombia, se determinó la sensibilidad al fluconazol y al voriconazol de aislamientos de *Cándida spp*, obtenidos de 54 pacientes hospitalizados con SIDA. Los pacientes eran adultos (promedio de edad 40,5 años, rango de 23 a 56) y la mayoría (77,8%) hombres. En 40 (71,1%) de ellos se obtuvo crecimiento de *Cándida spp*. y en 6 (11,1%) se aisló más de una especie de *Cándida*. La determinación de la especie reveló *C. albicans*, *C. krusei*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. glabrata*. La determinación de la sensibilidad *in vitro* se realizó por difusión en agar con las especificaciones del CLSI (M44P). El 72,9% de los aislamientos de *Cándida spp* fueron sensibles al fluconazol; 6,3%, sensibles dependientes de la dosis, y 20,8%, resistentes. Para el voriconazol, 89,6% fueron sensibles; 8,3%, sensibles dependientes de la dosis y 2,1%, resistentes. La resistencia se observó en *C. albicans* y *C. krusei*. Estos resultados demuestran la emergencia de resistencia de ambos antimicóticos. Igualmente se señala la importancia de las pruebas *in vitro*, puesto que en pacientes con VIH/SIDA pueden encontrarse especies resistentes. Estos comportamientos diferidos en cuanto a sensibilidad a los antifúngicos ratifican la importancia de la identificación a nivel de especie de las levaduras del género *Cándida*⁵

Estudios sobre resistencia de Cándida spp a antimicóticos azólicos en cavidad oral y complicaciones sistémicas con un componente de riesgo a presencia de resistencia

Un estudio realizado en la Facultad de Odontología de la Universidad de Cartagena en pacientes con candidiasis subprotésica, en el periodo transcurrido entre agosto 2006 a junio del 2007, incluyó a 44 pacientes por muestreo no probabilístico por criterio, para evaluar la presencia y tipo de *Cándida spp* y tipo de candidiasis subprotésica según signos, síntomas, edad, género y localización de la lesión, tipo de prótesis y tiempo de uso. Los resultados demostraron que la especie *Cándida albicans* era la más aislada 60%, el tipo de estomatitis frecuente fue la de grado I 52%.⁶

Por otro lado, las levaduras se adhieren a los materiales protésicos, catéteres y sondas vesicales formando *biofilms* y posteriormente nichos de microorganismo que ofrecen

resistencia a los mecanismos defensivos del hospedero y a los antifúngicos ampliamente usados. Estos microorganismos, en hospederos inmunodeprimidos, sufren transformaciones morfológicas y bioquímicas tales como su adherencia a las células epiteliales, síntesis de enzimas hidrolíticas, formación de hifas o pseudohifas (cambio fenotípico), modulación antigénica que lleva a la invasión tisular y en definitiva a una preponderancia en las mismas.

Los biofilm permiten la acumulación de *S. cerevisiae*, especialmente en personas con **hábitos higiénicos deficientes**. Sanglard D. en 1997 demostro que los *Sacharomyces* transportan antibióticos y antimicóticos produciendo la salida del fármaco y reduciendo su acumulación intracelular. Los genes MDR1 y CDR1, que codifican proteínas transportadoras de antimicóticos y su sobreexpresión promueve resistencia en *C. albicans*

La candidiasis oral ha sido ampliamente asociada a estados de inmunodepresión y se ha establecido su valor en el pronóstico y curso de infecciones virales (VIH), desnutrición, diabetes en adultos. Las candidiasis localizadas y asociadas a prótesis en ancianos postrados en cama y hospitalizados son factores predisponentes a fungemias que pueden causar muerte⁵. Por ello, su tratamiento farmacológico oportuno evitaría su diseminación sistémica. La valoración del perfil de resistencia a los antifúngico habituales empleados en candidiasis oral está asociada a la prescripción adecuada, seleccionada y oportuna de estos, para lograr la eficacia del tratamiento, al respecto diversos autores han realizado los siguientes estudios de investigación.

Rueda Gordillo F. en 2008 realizó en Colima, México un estudio para determinar la diferencia fenotípica y a nivel molecular de cepas de *Cándida albicans* aisladas de la cavidad oral en dos grupos de pacientes: un grupo **infectado con VIH** 121(49,2%) y otro grupo de controles sanos 125 (50,0 %) y determinaron los perfiles de resistencia a fluconazol, cariotipos y resistotipos. En el grupo de sujetos con VIH predominó la *Cándida albicans* 85% y *Cándida glabrata*15,6%, la *Cándida dubliniensis* se aisló en el 1,6% de los pacientes VIH, siendo el primer reporte de esta especie en México. En los sujetos sanos predominó la *Cándida albicans* y *Cándida tropicalis*. Los resultados evidenciaron diferencias entre ambos grupos, al ser comparados por resistotipo y cariotipificación. En pacientes infectados con VIH se encontraron 149 clonas, las cuales presentaron 12 perfiles de resistotipos, siendo el perfil ABCDE y A-CDE. En los sanos se

observaron 74 clonas de *Cándida albicans* siendo las combinaciones de mayor frecuencia –CDE, -bcDe⁷.

En el 2007 se realizó un estudio en los pacientes portadores de prótesis dental, se realizó cultivos micológicos, para evaluar recuentos de levaduras, la sensibilidad a los antimicóticos y determinar el impacto de los tipos de prótesis, tiempo de utilización, el género y la edad de los pacientes. En el estudio retrospectivo participaron 1230 pacientes. El material para el exámen micológico fue muestreado a través de un frotis del paladar. Después de la identificación de especies de *Cándida* se hizo la evaluación del crecimiento, las pruebas de sensibilidad a fluconazol y la nistatina. Entre las especies aisladas con mayor frecuencia se encontró *Cándida albicans* 46,9% y *Cándida glabrata* 14%. Hubo una diferencia estadísticamente significativa, entre el crecimiento abundante de las levaduras y el sexo femenino ($p = 0,017$). Los pacientes se encontraban en edad de 25 a 90 años, la media de edad de 64 años. La relación entre los grupos de edad y estado de salud general, como la hipertensión arterial ($p = 0,000$) y la diabetes ($p = 0,019$), fue estadísticamente significativa, con el mayor número de estos problemas de salud entre 61 a 70 años de edad en ambos grupos, respectivamente. Las enfermedades crónicas úlcera péptica ($p = 0,631$) y depresión ($p = 0,594$) con relación a los grupos de edad no fueron estadísticamente significativas. Se realizaron pruebas de sensibilidad a 611 cepas de *Candida* spp con recuento de colonias de intermedio y alto, la sensibilidad a fluconazol fue de 80,5% y a la nistatina 98,7%. Las personas que portan prótesis removible, en un alto porcentaje, se ven afectadas por especies de *Cándida*; ello podría conducir a complicaciones a distancia, como candidiasis esofágica y derivar a una candidiasis sistémica, en presencia de factores predisponentes. El exámen micológico antes del tratamiento, especialmente en pacientes que usan prótesis de resina acrílica, parece ser necesario.⁸

El 2004 Takakura y colaboradores realizaron un programa de vigilancia y evaluaron sobrevida en aquellos pacientes con infecciones por *Cándida* en torrente sanguíneo y factores de **riesgo relacionados con resistencia al fluconazol (FCZ)**. Encontraron que el 4,6% de 326 aislamientos eran resistentes al FCZ; mediante el análisis univariado, se documentó que la edad avanzada, la presencia de neoplasia hematológica y la neutropenia, se correlacionaban con la resistencia al fluconazol. Sin embargo, en el análisis multivariado, sólo fue estadísticamente significativa la presencia de neoplasia hematológica de base, como factor de riesgo (OR 6,6 con IC 95% de 1,6 a 26,9 con $p < 0,009$). La sobrevida calculada a 30 días fue de 68,4%.⁹

La terapia antimicótica profiláctica en **pacientes oncológicos** ha favorecido la mayor incidencia de diversas especies de *Cándida* resistentes. El 2004 Baddley JW realizó un estudio en Estados Unidos, en el cual se analizaron 32 aislamientos clínicos de *Cándida* spp. de la cavidad oral de pacientes oncológicos, evaluando la sensibilidad a diversos antimicóticos mediante el método de microdilución en caldo de acuerdo al documento M-27^a del NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standards*) y la determinación de los genotipos. La respuesta a antimicóticos se comparó con los genotipos, según el SSCP (*Análisis de polimorfismo conformacional de banda simple*) del gen *ERG11* que codifica resistencia a los azoles, en un intento de identificar la participación de mutaciones de este gen en la resistencia a los azoles. Se encontraron tres genotipos SSCP que se distribuyen entre los aislamientos con diferentes respuestas a los antimicóticos, sugiriendo que no existen mutaciones *ERG11* en *Cándida albicans* que puedan asociarse directamente con la resistencia a estos antifúngicos. Adicionalmente, los aislamientos se clasificaron por métodos convencionales y se evaluó su diversidad genética mediante análisis SSCP de la región ITS2 (Secuencias espaciadoras intergénicas) observándose la presencia de ocho genotipos. El SSCP es un método más sensible de clasificación taxonómica.¹⁰

Sanglard D. en 1999 describe que el recibir terapia con fluconazol dos semanas antes del diagnóstico de candidiasis sistémica promueve la aparición de resistencia a *Cándida* spp obteniendo resultados significativos ($p < 0,017$)^{11,12}, de forma similar se presentó resistencia de *Cándida* spp en individuos con neoplasia y afecciones hematológicas, posterior al tratamiento profiláctico con fluconazol ($p < 0,009$)¹³ Existen otros antecedentes de resistencia de *Cándida* spp, posterior al uso de antibióticos como la vancomicina, Piperacilina, Tazobactam y Linezolid con espectro para microorganismos Gram positivos, incluyendo especies de *Enterococcus* spp, mencionados por Almirante el 2002¹⁴

Una revisión sistemática publicada por Brion y colaboradores en el 2007, quienes seleccionaron y analizaron doce estudios clínicos controlados, encontraron que el uso de terapia profiláctica con fluconazol, puede asociarse con la colonización de levaduras del género *Cándida* spp con sensibilidad reducida o resistencia al fluconazol (RR 1,44, 95% CI 1,05- 1,96).¹⁵

Montero y colaboradores en una publicación reciente 2012, en un estudio de cohorte prospectivo, en 226 pacientes con candidemias, evidencian la heterogeneidad en la

presentación de resistencia en las diferentes especies de *Cándida no albicans*. **Los factores asociados a resistencia al fluconazol** en el análisis multivariado fueron: neutropenia (OR 4,94 IC 95% 1,5 – 16,20 p=0,008), enfermedad renal crónica (OR 4,82 IC 95% 1,47 – 15,88 p=0,01), y exposición previa al fluconazol (OR 5,09 IC 95% 1,66 – 15,6 p=0,004). Este estudio posee limitaciones, por ser un estudio que involucra población de un solo centro asistencial, en el cual no se realizó un registro de los antimicrobianos, utilizados previamente en estos pacientes, que en estudios anteriores han mostrado ser relevantes, especialmente para especies de *C. krusei* y *C. glabrata*¹⁶

Algunos autores han logrado demostrar que al utilizar un enfoque de tratamiento frente a *Cándida* sp resistente a azoles, según susceptibilidad *in vitro*, sería una alternativa para modificar el desenlace en términos de disminución de mortalidad atribuible por candidemia secundaria a *C glabrata* (p=0,02). El concepto podría ser extrapolable a las otras especies de *Cándida* resistentes a azoles¹⁷.

Considerando la prevalencia de candidiasis subprotésica en los adultos mayores portadores de prótesis dentales que residen en el “Hogar 25 de Mayo” de la ciudad de Sucre observada en el estudio del 2010, la emergencia de la resistencia a los fármacos antimicóticos de uso habitual y algunos factores que se han asociado a este fenómeno en la literatura extranjera, se consideró relevante y oportuno realizar el presente trabajo de investigación. La finalidad del estudio es determinar si existe asociación entre la resistencia de las cepas de *Cándida spp* causantes de candidiasis subprotésica y factores de riesgo como: la especie del microorganismo, hábitos higiénicos aplicados a las prótesis dentales, grado de candidiasis subprotésica, presencia de diabetes, anemia, y enfermedades neoplasias. Los resultados orientarán la terapéutica odontológica antimicótica para la resolución de dicho problema de salud.

1.1. PROBLEMA

1.1.1. Definición del problema

En la clínica odontológica la candidiasis subprotésica constituye un problema de salud frecuente en pacientes que portan prótesis removible total, especialmente en inmunodeprimidos⁴, ancianos, uso prolongado de antibióticos, diabéticos y desnutridos. La mayor parte de las infecciones bucales son producidas por *Cándida spp*, siendo la *Cándida albicans* la más frecuente⁴

Aunque es indudable el valor terapéutico de los antifúngicos azólicos, en los últimos años se han observado episodios de candidiasis subprotésica con aislamientos clínicos de *Cándida* que eran resistentes *in vitro* a fluconazol. Takakura y colaboradores realizaron programas de vigilancia de candidemias e incluyeron factores de riesgo asociados a la resistencia de *Cándida spp* al fluconazol⁹.

Las estadísticas referidas por estudios en el extranjero ^{13, 16,17} muestran un incremento de resistencia de *Cándida spp* a los azoles en determinados pacientes inmunodeprimidos y con antecedentes de tratamientos farmacológicos profilácticos como los antimicrobianos en otros. Estos antecedentes motivaron, en este estudio, determinar los factores de riesgo posiblemente asociados a la resistencia de *Cándida spp* a fluconazol y voriconazol, en portadores de prótesis dentales que presentan una alta frecuencia de candidiasis subprotésica; siendo el fluconazol el antimicótico usualmente empleado en nuestro medio. Fueron incluidos en el estudio como factores de riesgo la especie de *Cándida spp*, edad, presencia de diabetes, grado de desnutrición, anemia, neoplasias, hábitos higiénicos aplicados a la prótesis dentales y grado de candidiasis, si bien predisponen a la candidiasis subprotésica además crean un microambiente en los tejidos gingivales que favorecen, estimulan, predisponen y activan los patrones de resistencia intrínsecas y extrínsecas de las *Cándidas spp*.

Actualmente no tenemos, en el campo odontológico, en Bolivia, ningún estudio de la susceptibilidad de las especies de *Cándida spp* en la cavidad orofaríngea de nuestros pacientes desdentados, es frecuente el uso de prescripciones empíricas para el tratamiento en candidiasis subprotésica, ya que no se emplean pruebas de susceptibilidad para el monitoreo del comportamiento de *Cándida spp* a los antimicóticos. La determinación de la susceptibilidad a los antimicóticos y el estudio de factores asociados a la resistencia de *Cándida spp* a los antimicóticos azólicos permitirá obtener resultados que orienten los protocolos farmacológicos para el tratamiento de la candidiasis subprotésica.

1.1.2. Planteamiento del Problema.

¿Cuáles son los factores de riesgo más frecuentes, asociados a la resistencia de *Cándida spp* a fluconazol y voriconazol utilizados en el tratamiento de candidiasis subprotésica en adultos de la tercera edad portadores de prótesis dental que residen en el Hogar 25 de Mayo, Sucre 2012?.

1.1.3. Justificación

El amplio uso de antimicóticos ha favorecido la emergencia de *Cándida* spp resistentes y se aprecien más fracasos terapéuticos. Santa Ana et al describieron en el 2002 el aumento de las especies de *Cándida* que no eran *albicans* (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C.krusei*, *C. parapsilosis*) en las infecciones orales de pacientes inmunocomprometidos, especialmente con SIDA².

El desarrollo de resistencia al fluconazol es un proceso complejo, en el cual intervienen diversos factores, tanto del hospedero como del microorganismo. Entre los factores dependientes del microorganismo figuran mecanismos celulares y moleculares como son alteraciones en la enzima diana (14-á-desmetilasa de lanosterol) y aumento de la expresión de los transportadores activos de membrana que disminuyen la concentración intracelular de los azoles. Otros factores están representados por la sustitución de la población sensible de *C. albicans* por otra especie, como *C. krusei*, *C. glabrata*, o aislamientos de *C. albicans* inicialmente sensibles que se vuelven resistentes por alteraciones genéticas. Debe considerarse, igualmente, la expresión genética transitoria que origina una cepa temporalmente resistente en presencia del antimicótico y por último, las alteraciones que ocurren en la misma población fúngica (microevolución).

Ante la resistencia al fluconazol han surgido nuevas alternativas terapéuticas, como el voriconazol, compuesto que se presenta como una posible solución para el manejo de las especies de *Cándida* resistentes a los azoles de primera y segunda generación, así como a otros antimicóticos. El estudio de la sensibilidad *in vitro* a los antimicóticos ofrece la posibilidad de obtener datos confiables a la hora de seleccionar el fármaco más adecuado para el tratamiento de las infecciones micóticas. Mediante este procedimiento se consigue una valoración cuantitativa de las concentraciones inhibitorias mínimas (CIM) y de las características de un aislamiento clínico frente a un antimicótico lo cual se traduce en una valoración cualitativa, determinándose la resistencia o sensibilidad de la cepa a esta sustancia.

Actualmente en los servicios de laboratorio de microbiología clínica en Bolivia, no se realiza la determinación de sensibilidad a los antimicóticos utilizados en el tratamiento de candidiasis oral, por lo que se desconoce el perfil de resistencia de las cepas. La aplicación de estos métodos implica un componente novedoso al presente estudio.

En el área de odontología, la selección de antimicóticos es empírica, requiriendo estudios orientados a las necesidades de nuestros ancianos portadores de prótesis afectados, frecuentemente, por infecciones micóticas oportunistas. Los resultados obtenidos permitirán ofrecer criterios de selección del tratamiento para erradicación de la infección, evitando errores al seleccionar empíricamente antimicóticos frente a cepas de *Cándida* resistentes.

El aporte para otras áreas de la medicina hospitalaria cuyos pacientes manifiestan frecuentemente infecciones oportunistas por *Cándida sp*, permitirá incorporar estos métodos a partir de las experiencias obtenidas en el presente estudio, proporcionará una forma de farmacovigilancia y eficacia de los fármacos antimicóticos habituales y sugiere otros previamente valorados por métodos microbiológicos, siendo pertinente el presente estudio.

1.2. OBJETIVOS.

1.2.1. Objetivo General.

- Determinar los factores de riesgo más frecuentes, asociados a la resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol y voriconazol, utilizados en el tratamiento de candidiasis subprotésica, en adultos de la tercera edad portadores de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”. Sucre 2012.

1.2.2. Objetivos Específicos

- Determinar la presencia y especie de *Cándida spp.* en adultos de la tercera edad portadores de prótesis que residen en el “Hogar 25 de Mayo”
- Determinar la prevalencia y grado de candidiasis subprotésica en adultos de la tercera edad portadores de prótesis que residen en el “Hogar 25 de Mayo”.
- Determinar la resistencia de cepas *Cándida spp.* a fluconazol y voriconazol aisladas de adultos de la tercera edad portadores de prótesis que residen en el “Hogar 25 de Mayo”.
- Asociar la resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol y voriconazol con: la especie de *Cándida spp*, hábitos higiénicos, grado de desnutrición, presencia de anemia, diabetes, neoplasias y edad en adultos de la tercera edad portadores de prótesis dental.

CAPÍTULO II

CAPITULO II.

2.1. MARCO TEÓRICO.

2.1.1. Candidiasis oral

La candidiasis bucal es una infección micótica no contagiosa de la boca causada por un crecimiento excesivo de la levadura *Cándida albicans*, comienza en la lengua y dentro de las mejillas y se puede propagar al paladar, encías, amígdalas, y garganta. Candidiasis oral puede ser definida como "*la enfermedad del paciente enfermo*", ya que siempre va a precisar de uno o varios factores facilitadores, para poder provocar patología en la boca²³. La candidiasis se produce a partir de un reservorio endógeno (oral o digestivo) del propio enfermo.

Los factores de riesgo que incrementa la probabilidad de contraer candidiasis oral, son la edad especialmente los ancianos, sistema inmune debilitado como la desnutrición, cáncer o tratamientos médicos para el cáncer, como quimioterapia, enfermedad prolongada en el que se incluye la diabetes, uso de antibióticos, uso de corticosteroides, orales o inhalados, portación de dentaduras acrílicas y otras²³.

Las candidiasis orales primarias se subdividieron en agudas y crónicas en base a su persistencia, según la clasificación inicial propuesta por Lehner en 1966, que reconocía unas formas agudas: pseudomembranosa y atrófica y unas formas crónicas: atrófica (estomatitis protética) e hiperplásica

2.1.1.1. Candidiasis subprotésica



Figura 1. Inflamación de la mucosa palatina.

La candidiasis o estomatitis subprotésica es un proceso inflamatorio asociado a la utilización de prótesis dentales removibles. Enfermedad que afecta a más del 70% de los portadores de prótesis removibles.²⁴ Se caracteriza por un enrojecimiento persistente del

área de soporte de una prótesis removible, preferentemente palatina.²⁵ Desde el punto de vista clínico, tal y como describen en su libro Ceballos y cols. se acepta la clasificación propuesta por Newton^{5*}, que dividió la candidiasis subprotésica en tres fases: grado I, grado II y grado III. Grado I: punteado rojizo sobre la mucosa palatina, grado II: hiperemia de la mucosa con alisamiento y atrofia de la misma y grado III: hiperemia de la mucosa con aspecto nodular o granular, semeja como un empedrado de pequeños nódulos, que no desaparecen una vez eliminadas la *Cándida* ²⁶

En la fisiopatología la *Cándida* tiene mayor capacidad de infección si el terreno le es favorable. Se sabe que los pacientes de edad avanzada presentan mejores condiciones para desarrollar la patología, se observa el flujo salival reducido, con lo cual carecen de lisozimas, lactoferrina y las citoquinas salivares que inhiben y controlan el crecimiento de las *Cándidas*, y normalmente no tienen las mejores condiciones higiénicas. Además, la formación de una película salival sobre todas las superficies es un método de protección para la cavidad oral. La unión de inhibidores de las proteasas al polimetilmetacrilato de las prótesis varía entre individuos, y esto explica la mayor susceptibilidad de algunos sujetos a la colonización por parte de los hongos.

Por otro lado, la inmunidad mediada por células es el mecanismo de defensa predominante en el hospedero durante la infección de la mucosa causada por *C. albicans*. Esto ha sido confirmado por estudios clínicos y experimentales que muestran el papel crítico de las células T en la protección contra la infección de la mucosa por *C. albicans* (por ejemplo, en candidosis mucocutánea crónica).

Existen dos tipos de respuesta inmune y su papel en el desarrollo de la enfermedad es antagónico. Se conoce hoy en día como el paradigma Th1 y Th2.

La respuesta Th1 o de protección está asociada con la producción de Interferón gamma (IFN-g) e Interleuquina 2 (IL-2), se relaciona con resistencia a la infección controlando la respuesta inmune celular y se expresa al inicio de la enfermedad. La respuesta Th2 está relacionada con la producción de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10, se presenta en la fase progresiva de la enfermedad y tiene el control de la inmunidad humoral. La relación entre estas respuestas antagónicas determinará el curso de la enfermedad.

La activación de la respuesta Th1 depende en mayor proporción de las células presentadoras de antígenos y del Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase II. Su

inducción in vivo se correlaciona con la IL-12 y la extensión de la producción de IFN-g requiere la acción coordinada de algunas citoquinas incluyendo IL-6 y Factor de necrosis tumoral alfa (TNF). La IL-12 es una citoquina fundamental, pues dirige la defensa tanto a nivel de las mucosas como a nivel sistémico.

En contraste, la respuesta Th2 no depende tanto de las células presentadoras de antígenos ni de las moléculas del Complejo Mayor de Histocompatibilidad clase II. Se asocia con la detección de Inmunoglobulina E (IgE) específica en suero, con la producción de IL-4 e IL-10 y regula las funciones efectoras antifúngicas de los macrófagos, incluyendo acción sobre el óxido nítrico que secretan cuando están²⁷ activados.

Los sujetos con problemas de inmunocompetencia y con enfermedades sistémicas asociadas, tales como la diabetes tienen problemas similares. La inmunidad celular mediada por las células T helper (CD4+) activa las citoquinas salivares Th1 y Th2, que se consideran las responsables de la resistencia a la infección por *Cándida*.²⁸

El simple hecho de portar la prótesis, ya es un factor predisponente para la patología. Se crea un ambiente cerrado, más anaeróbico, entre la prótesis colocada en la boca y la mucosa, con lo cual se favorece el crecimiento de *Cándida*, pudiendo pasar de ser un hongo comensal en la mucosa a ser un parásito que infecte la mucosa²⁹

Las prótesis extraíbles, generalmente están formadas en su totalidad o en buena parte por resina de polimetilmetacrilato. Sobre dicho sustrato la *Cándida* es capaz de generar una matriz extracelular diferente a la que generan sobre otra superficie^{30*}, esta forma de crecimiento se llama *biofilm*. Bailie analiza el comportamiento de dos cepas de *Cándida*, una en forma de biofilm y otra en forma normal o planctónica ante un tratamiento con anfotericina B. Concluye que la forma de biofilm es más resistente al tratamiento. Dicho *biofilm* contiene menos proteínas e hidratos de carbono y más glucosa y galactosa que si la *Candida* creciese en condiciones normales. Estas diferencias explican que el *biofilm* presente mayor resistencia a los tratamientos antifúngicos, y productos con anfotericina B, nistatina, clorhexidina y fluconazol no han sido capaces de eliminar la *Cándida spp* en dichas condiciones³¹. Si además, la superficie de la resina es rugosa y tiene una elevada porosidad, se favorece la acumulación de residuos y la aparición de la enfermedad³² Pires evidenció 50,6 % de pacientes con estomatitis subprotésica en un grupo de 77 pacientes. A todos ellos les sustituye la prótesis por una nueva y vuelve a hacer el

recuento seis meses después, obteniendo un 18,2%. Las prótesis rebasadas con materiales blandos presentan el mismo problema, en mayor grado por la facilidad de deterioro de dichos materiales ³³. La utilización de algunos agentes químicos para su limpieza a veces favorecen el deterioro del material de rebase y no previenen el crecimiento de *Cándida spp.*

Entre otros **factores predisponentes** de la candidiasis protética tenemos:

- Prótesis removible antigua-desajustada
- Mala higiene bucal
- Mala higiene protésica
- Utilización nocturna de las prótesis
- Infección por *Cándida spp.*
- Xerostomía
- Déficit de Fe, vitamina B12
- Enfermedades sistémicas descontroladas
- Inmunosupresión

Para establecer el diagnóstico definitivo de candidiasis es necesario evidenciar la invasión tisular por *Cándida spp.* Por este motivo, un resultado negativo de un cultivo tiene más valor para excluir la infección candidiásica que los resultados positivos para confirmarla. Podemos decir que en ausencia de clínica compatible la positividad del cultivo, no implica que estemos ante una candidiasis oral.

La realización de una extensión de material tomado de la lesión y su visión directa al microscopio es un método rápido y fácil de realizar, incluso sin teñirla o con PAS o Gram para facilitar la identificación de hongos.

La observación de hifas y pseudohifas entre las levaduras se ha asociado a infección por *Cándid sppa*, si bien su presencia no es patognomónica. La invasión tisular por parte de las hifas de *Cándida*, observada en las preparaciones histológicas, es el indicador más seguro de infección; si bien pocas veces está indicada la biopsia de la lesión con fines diagnósticos, excepto en los casos de candidiasis hiperplásica, en los que es obligado. La candidiasis oral muy rara vez ocurre si el recuento de células CD4+ se encuentra por encima de 500. Los episodios son más comunes a medida que el recuento se acerca a

100. La candidiasis oral puede ser más difícil de tratar cuando el recuento de células CD4+ cae por debajo de 50.

El tratamiento de la candidiasis consiste en enseñar al paciente las medidas higiénicas individuales y de la prótesis^{4*,5*}. Se le debe indicar dormir sin la misma, colocando la prótesis en una solución de clorhexidina a concentración entre el 2% o de hipoclorito de sodio entre el 0,5 y el 2%^{1**}. Ésta última opción no es compatible con las prótesis metálicas³⁴ Los agentes antifúngicos pueden ser tópicos o sistémicos, y está demostrada la misma efectividad terapéutica para el mismo agente por ambas vías de administración en pacientes inmunocompetentes²⁰.

Algunos colutorios del tipo de la clorhexidina si son útiles desde un punto de vista preventivo³⁵

Los antifúngicos pueden ser agentes poliénicos (nistatina y anfotericina B), imidazoles (clotrimazol, miconazol y ketoconazol) o triazoles (fluconazol e itraconazol), aunque conocemos la resistencia del biofilm a dichos tratamientos.

Se indica tratamiento antifúngico cuando el paciente refiera una clínica de dolor o sensación de ardor, o bien exista riesgo de infección faríngea o sistémica y se debe prolongar hasta cuatro semanas. Las pautas de tratamiento de los diferentes antifúngicos se presentan en la siguiente tabla. Modificado de Ceballos y cols²⁶

Pautas de utilización de los antifúngico Modificado de Ceballos y cols	
Nistatina	Suspensión oral (100.000 UI/ml) 5-15 ml/día, enjuagues de 1 minuto y deglutir , cada seis horas Comprimidos (200 000UI/comp) 1-3 comp/día disueltos en la boca
Miconazol	Comprimidos 500mg 2 comp/día disueltos en la boca Gel oral2% 1-2 aplicaciones/día
Clotrimazol	Comprimidos 10mg 4-5 comp/día disueltos en la boca
Anfotericina	Vía endovenosa 5mg/kg/día
Ketoconazol	Comprimidos 200mg 1 comp/día
Fluconazol	Comprimidos 200mg 1/comp/día 150mg dosis única
Itraconazol	Comprimidos 100mg 2/día.

Monsenego presenta un estudio sobre 15 pacientes en el que la aplicación de un barniz fotopolimerizable (Permalink®) sobre la superficie de la resina reduce el número de bacterias capaces de adherirse a las prótesis ³⁶. Barnizó un área de la prótesis en cada paciente y tomó una muestra a los 15 días de la parte barnizada y la no barnizada, así como de la mucosa correspondiente a cada una de las partes, y observó que disminuía de forma significativa la cantidad de colonias en los dos sustratos.

2.1.1.2 Agentes etiológicos de la candidiasis subprotésica.

Darwazeh cita que el 71,4% de los pacientes diagnosticados de estomatitis subplaca protésica presentan colonización por *Candida spp* ²⁶; la especie mas importante desde el punto de vista medico odontológico como agente etiológico de la candidiasis subprotésica es la *Cándida albicans*, aunque han sido aisladas otras especies como son la *Cándida krusei*, *Cándida tropicalis*, *Cándida dubliniensis*, *Cándia parapsilopsis* y *Cándida guillermondii*.³⁷

2.1.2. Género *Cándida*

El género *Cándida* son microorganismos que pertenecen al Reino *Fungi*, Filo *Deuteromiceta*, Subfilo: *Saccharomycecotina*, Clase: *Sacharomycetes*, Orden *Saccharomycetales*. Familia: *Saccharomycetaceae*, Género *Cándida* y existen diversas Especies de *Cándida* como: *Cándida albicans*, *Cándida glabrata*, *Cándida krusei* y *Cándida parasilopsis*. Las levaduras de *Cándida* son células globulosas, ovoides o ligeramente alargadas miden 3 a 5 *um* por 6 a 12 *um* y se reproducen por blastoconidios que emiten una sola vez, en un plazo aproximado de 20 minutos. Se caracteriza por formar pseudohifas tanto in vivo como in vitro⁷. Forma parte de la microbiota oral, siendo la zona bucal la más parasitada, también están presentes en el tracto gastrointestinal, como un comensal agazapado, puesto que aprovechará cualquier alteración de las defensas del hospedero para producir manifestaciones clínicas.

Las especies de *Cándida* son más de 160, de las cuales se considera que sólo 18 son patógenas para el hombre, cuya más común característica es la ausencia de una forma sexual.³⁸

El tubo germinal es una extensión filamentosa de la levadura sin estrechamiento en su origen, cuyo ancho suele ser la mitad de la célula progenitora y su longitud tres o cuatro

veces mayor que la célula madre. Sólo la *C. albicans* es capaz de producir verdaderos tubos germinales; sin embargo, otras especies como *C. tropicalis* pueden producir pseudohifas precoces de aspecto similar a los tubos germinales, pero con una zona de constricción característica adyacente a la célula madre, por lo que esta prueba es útil para diferenciar *C. albicans* del resto de las especies de *Cándida*, aunque no está exenta de falsos negativos.³⁹

Estas levaduras de forma muy variada se reproducen vegetativamente, mediante gemación. Tiene un metabolismo oxidativo, como fermentativo, en ciertas condiciones de cultivo forman pseudomicelio.⁴¹

Las especies de *Cándida spp* pueden secretar una variedad de sustancias durante el crecimiento, la mayoría de estos son ácidos y alcoholes, todas las formas de acetato y piruvato como metabolitos comunes. Propionato, succinato, lactato isovalerato y formato son encontrados en cultivos de *C. albicans* y otras especies de *Cándida sp*. La mayoría de las especies de cepas patógenas producen acetoina y otras poseen aminotransferasas que son capaces de formar derivados de piruvato y desde lactano y alcoholes se da el catabolismo de aminoácidos aromáticos³⁸

Las clamidosporas son formas de resistencia, redondas u ovales, de 6-12 µm de diámetro y pared gruesa, con aspecto de esporas laterales o terminales. Su producción es característica y diagnóstica de *C. albicans*. También puede hacerse una identificación presuntiva de esta especie si se observa la formación de grupos compactos de blastoconidias, a intervalos regulares, a lo largo de la pseudohifa. *C. tropicalis* produce pequeñas cantidades de blastoconidias, muy esparcidas o en pequeños grupos a lo largo de las hifas. Sin embargo, *C. parapsilosis*, *C. kefyr* y *C. krusei* se ordenan a lo largo de una corriente de blastoconidias, siendo esta la característica que permite su identificación; además, algunas cepas pueden producir hifas gigantes.

2.1.2.1. Factores de virulencia.

La *Cándida spp*. posee una facilidad para crecer y multiplicarse, el mayor factor de virulencia de este microorganismo es la **capacidad de adherirse** tanto a células del hospedero como a otros microorganismos e incluso a materiales inertes.

La adherencia se debe a características químicas y estructurales de la pared celular. El compuesto químico que permite la unión es una **manoproteína**, mientras que la estructura es una capa fibrilar que recubre la pared. También se han descrito a otras moléculas de adhesión. La *C. glabrata* genera proteinasas y que la hidrofobicidad de su superficie celular es similar a la de *C. albicans*, lo que asegura su capacidad de adherencia a las células del huésped. alteraciones del huésped que contribuyen al desarrollo de las infecciones por esta especie son la disminución en los niveles de IgA secretora vaginal, una menor respuesta inflamatoria y, sobre todo, una disminución cuantitativa o cualitativa de los linfocitos T, hecho que explica su mayor frecuencia en los pacientes con sida, trasplantados y con neoplasias.

La formación de **pseudomicelios** y la rapidez con que puede variar su morfología son características de agresividad.

In vitro se han evidenciado otros factores entre ellos interferencia sobre la fagocitosis y secreción de productos tóxicos (metanos, candidoxinas y citoquinas).

Sherwood demostró que *Cándida* puede emitir largos filamentos capaces de invadir hacia la profundidad de los tejidos si en esas zonas hay mayor cantidad de nutrientes. Este fenómeno se conoce como tigmotropismo⁴²

2.1.2.2. Fuentes de infección.

Las fuentes de infección por *Cándida spp.* son endógenas, debido al muy alto porcentaje de portación asintomática del hongo en boca, en el intestino y ocasionalmente pliegues cutáneos. Sin embargo, en algunos casos no se descarta la vía exógena, que se da especialmente en ambientes hospitalarios.

La acción patógena de la *Cándida* se produce en cualquier órgano o tejido en presencia de las condiciones para su multiplicación, excepto en la porción extra folicular de los pelos. Produce manifestaciones banales y recidivantes, y su paso en sangre ocasiona endocarditis y conduce a la muerte⁴²

2.1.2.3. Diagnóstico micológico.

Para la detección de *Cándida spp.* se realizan los siguientes análisis microbiológicos según criterios microscópicos, macroscópicos y criterios bioquímicos enzimáticos.

2.1.2.3.1. Identificación de *Cándida spp.* Según criterios microscópicos.

Frotis directos húmedos. Se efectúan a partir de muestras obtenidas por raspaje, hisopado o biopsia, permiten la identificación de levaduras y pseudomicelios.

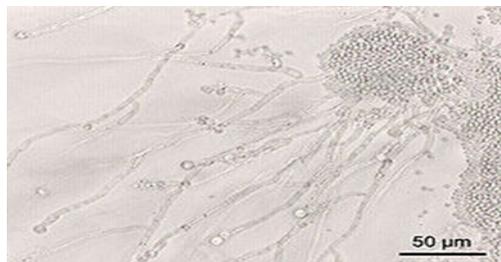


Figura N° 1 Examen microscópico de *Cándida spp.* en preparados húmedos
Fuente. www.medicineworld.org

Frotis directos teñidos con Gram o tinción simple azul de metileno. Son métodos fijados y coloreados con el método de Gram o tinción simple. Mediante la tinción de Gram las levaduras de *Cándida albicans* son células globulosas, ovoides y contornos definidos.⁴³

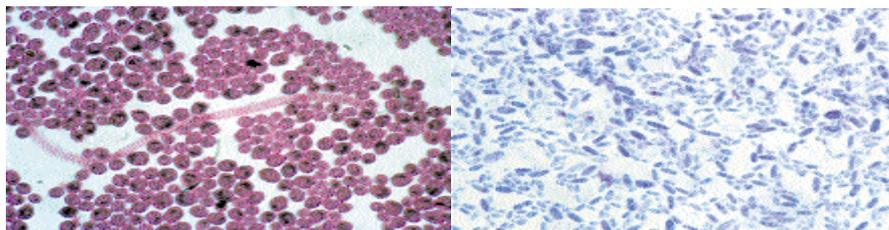


Figura N° 2 Examen microscópico de *Cándida spp.* en preparados tintoriales
Fuente: Revista Iberoamericana de Micología – 2001pg.11-6 ISBN: 84-607-3050-6

Tubo germinal o filamentoso. El tubo germinal es una extensión filamentosa de la levadura, sin estrechamiento en su origen, cuyo ancho suele ser la mitad de la célula progenitora y su longitud tres o cuatro veces mayor que la célula madre. Sólo *C. albicans* es capaz de producir verdaderos tubos germinales; sin embargo, otras especies como *C. tropicalis* pueden producir pseudohifas precoces de aspecto similar a los tubos

germinales pero con una zona de constricción característica adyacente a la célula madre, por lo que esta prueba es útil para diferenciar *C. albicans* del resto de las especies de *Cándida*, aunque no está exenta de falsos negativos. La prueba es positiva si se visualizan tubos germinales⁴⁴

Pruebas para identificar Formación de clamidosporas y pseudohifas .La formación de hifas, blastoconidias, clamidosporas o artrosporas por parte de las levaduras constituye una característica morfológica de gran importancia para la identificación de algunas especies de levaduras.

Las **clamidosporas** son formas de resistencia, redondas u ovales, de 6-12 μm de diámetro y pared gruesa, con aspecto de esporas laterales o terminales. Su producción es característica y diagnóstica de *C. albicans*. Se ve estimulada en ciertos agares

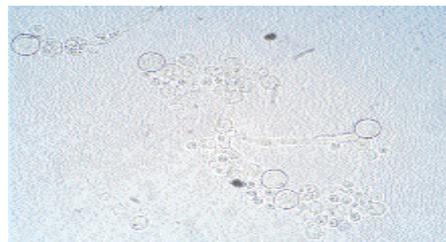


Figura Nº 3 Examen microscópico de clamidosporas y pseudohifas *Cándida*
Fuente: Revista Iberoamericana de Micología – 2001pg.11-4 ISBN: 84-607-3050-6

- **Agar harina de maíz** Consiste en la inoculación se debe realizar, según la técnica de Dalmau⁽²⁶⁾, haciendo tres cortes paralelos en el agar (separados 1 cm) manteniendo el asa en un ángulo aproximado de 45°. Colocar un cubre-objeto sobre la superficie de agar cubriendo una parte de las estrías de siembra. Incubar las placas sembradas a 30 °C durante 24-48 hrs. y luego examinar al microscopio a través del cubre-objetos a x100, x400 ó x1.000 para la observación de clamidosporas.⁴⁴
- **Medio de cultivo sólido Oxgall-Tween-ácido Cafeico (TOC)** Este medio confirma la determinación de tubo germinal y clamidosporas en agar. Si no se observan tubos germinales una vez realizada la primera lectura a las 2 h de incubación, a 35°C y en atmósfera de O₂, la placa puede incubarse durante 24-48 hrs. más para visualizar el desarrollo de clamidosporas.⁴⁴
- **Leche diluida** El medio de leche diluida es excelente para la investigación de clamidosporas y pseudohifas de *Cándida albicans*. Consiste en emulsionar una

colonia joven en 3-4 ml del medio, incubar a 28-30 °C durante 24-48 hrs. y observar al microscopio a 100 x ó 400 x una gota de la emulsión.⁴⁴

2.1.2.3.2. Identificación de *Cándida spp.* según criterios macroscópicos.

Cultivo *Cándida s.p.* Permiten aislar e identificar levaduras del Género *Cándida s.p.* según criterios macroscópicos de la colonia desarrollada sobre la superficie del agar. Estos criterios dependerán del tipo de medio de cultivo empleado. A continuación se designan medios empleados para este fin.

Agar glucosado Sabouraud Este medio puede ser usado para el aislamiento, identificación y conservación de hongos patógenos y saprófitos. Puede ser usado en placas o en tubos con cierre. Constituida peptona, glucosa, cloranfenicol y agar. Medio de cultivo recomendado para el cultivo y desarrollo de hongos, particularmente los asociados con infecciones cutáneas (piel, pelo, etc.). No tienen agentes selectivos los que pueden ser agregados al medio de cultivo. El bajo pH favorece el crecimiento de hongos sobre bacterias.^{45, 46}

La identificación de *C. albicans* se realiza según criterios morfológicos que corresponden a colonias blancas, lisas y brillantes. Las variantes serían secas, plegadas y de aspecto más o menos céreo. La *C. krusei* presenta colonias secas, planas y muy extendidas sobre la superficie del medio, la *C. parapsilosis* ofrece colonias brillantes, cremosas a amarillentas, las *C. tropicalis* colonias mates, secas, blancas, cremosas, lisas o plegadas.⁴⁷

2.1.2.3.3. Identificación de *Cándida spp.* según criterios bioquímicos enzimáticos.

Medio CHROMagar Estos medios están diseñados para el aislamiento e identificación de algunas especies del género *Cándida* tras su incubación a 30-37 °C durante 24 a 48 horas.

El fundamento de los mismos se basa en la detección de determinadas actividades enzimáticas por parte de las levaduras mediante la hidrólisis específica de un sustrato cromogénico en presencia de un indicador de la enzima. Una de las principales ventajas de estos medios es permitir diferenciar fácilmente los cultivos mixtos.

La siembra se realiza según las técnicas tradicionales y las placas se incuban a 30-37°C durante 48 horas para que las levaduras desarrollen completamente el color. Al cabo de este tiempo, las colonias de *C. albicans* son lisas y de color verde esmeralda, a diferencia de *C. dubliniensis* que desarrolla un color verde oscuro y que, además, es incapaz de crecer a 45 °C. *C. tropicalis* produce colonias azul oscuro con un halo púrpura-marrón en el agar que la rodea, *C. krusei* forma colonias rugosas con el centro rosado y el borde blanco y *C. glabrata* manifiesta un color violeta morado. Las demás especies desarrollan colores y tonalidades diversas que no permiten su identificación por este medio⁴⁴.



Figura N° 4 Cultivo de *Candida* en Medio CHROMagar

Fuente: Revista Iberoamericana de Micología – 2001pg.11-4 ISBN: 84-607-3050-6

Identificación rápida de levaduras mediante pruebas bioquímicas.

El auxonograma convencional aplica por separado diferentes nutrientes sobre un medio sintético para apreciar el crecimiento de la levadura en estudio. Observaremos la utilización de los distintos nutrientes, ya sean hidratos de carbono (azúcares y alcoholes) o compuestos nitrogenados (peptona, asparragina, urea, sulfato amónico, nitrato de potasio), y a partir del requerimiento nutricional realizaremos la identificación. Se trata de un método poco utilizado en la actualidad, debido fundamentalmente a la laboriosidad que supone su realización en un laboratorio de Microbiología Clínica, por lo que se han comercializado métodos basados en este fundamento que facilitan la identificación de las levaduras.

Dentro de los manuales tenemos:

Auxacolor® (BioRad): la identificación se realiza basándose en el crecimiento que presenta la levadura por asimilación de distintos azúcares. La lectura se basa en un cambio de color (indicador de pH). Además, la galería incorpora una prueba de resistencia a la actidiona y otra para determinar la actividad de la fenol-oxidasa, importante para la identificación de *C. neoformans*. Permite la identificación de 26 especies diferentes de levaduras.

Sistema Uni-Yeast-Tek® (Remel): se basa en la asimilación de siete hidratos de carbono, a la vez que determinamos el crecimiento micelial y la producción de clamidosporas, asimilación y reducción de nitratos y producción del tubo germinal (Tween 80). El cambio de color de azul a amarillo determina la positividad para la prueba de asimilación de azúcares y el cambio de azul a verde para la reducción de nitratos.

API 20C AUX® (bioMérieux): es una galería comercial, se inoculan, con un medio semisólido, 20 cúpulas con sustratos carbonados deshidratados. El crecimiento se produce si presenta capacidad de utilizar dicho sustrato inoculando un medio mínimo semisólido. La lectura de la prueba genera un código numérico que facilita la identificación de 34 especies de levaduras distintas.

RapID Yeast Plus System® (Remel): detecta la asimilación de carbohidratos, ácidos orgánicos o aminoácidos, urea y ácidos grasos. Identifica un total de 43 especies de levaduras.

Fungiscreen 4H® (Bio-Rad): estudia el perfil enzimático de algunas levaduras observándose un cambio de color. Permite identificar cuatro especies distintas.

2.1.3. Antimicóticos empleados en candidiasis protésica.

El tratamiento de la candidiasis oral dentro de la que se encuentra la candidiasis protésica se basa en cuatro pilares, como bien señala⁴⁸

- Realización de un diagnóstico precoz y certero de la infección.
- Corrección de los factores facilitadores o de las enfermedades subyacentes.
- Determinación del tipo de infección candidiásica.
- Empleo de fármacos antifúngicos apropiados.

Es fundamental la corrección de los factores tanto sistémicos como la diabetes, la neutropenia o la ferropenia, como locales como la higiene de las prótesis o la xerostomía.

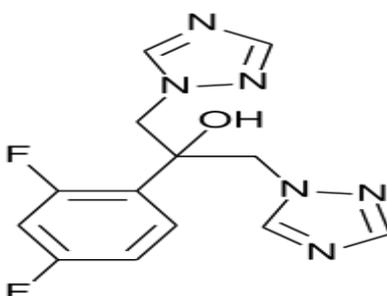
Se ha utilizado algunos productos considerados clásicos en el tratamiento de las candidiasis orales como la tintura de violeta de genciana, que no tienen hoy en día una indicación y su uso es muy engorrosa e incluso peligroso.⁴⁹

Algunos colutorios del tipo de la clorhexidina si son útiles desde un punto de vista preventivo⁵⁵

En las candidiasis orales el tratamiento farmacológico debe ser inicialmente tópico y en casos graves o resistentes la terapia debe ser combinada sistémica y tópica. Los dos grupos principales de antifúngicos, polifónicos y azólicos, son útiles para tratar estas infecciones

2.1.3.1. Fluconazol

Estructura química



Farmacocinética. El mecanismo acción es la inhibición de la estero 14 alfa-desmetilasa en los hongos, que es un sistema de enzimas que depende de citocromo P 450 de microsomas. De ese modo imidazoles y triazoles alteran la biosíntesis de ergosterol en la membrana citoplasmática y permiten la acumulación de los 14-alfa-metilesteroles.

Estos metilesteroles pueden alterar la disposición íntima (empacamiento) de las cadenas acil de fosfolípidos y con ello, alterar las funciones de algunos sistemas enzimáticos de la membrana como ATPasa y enzimas del sistema de transporte electrónico, y de este modo inhibir la proliferación de los hongos.

Farmacocinética. Fluconazol oral se absorbe casi por completo en vías gastrointestinales y las concentraciones en plasma son esencialmente las mismas después de administrarlo por vía oral o intravenosa; la presencia de alimentos o la acidez gástrica no modifican su biodisponibilidad. Concentraciones plasmáticas máximas son de 4 a 8 mg/ml. La excreción renal abarca el 90% de la eliminación, y la vida media es de

25 a 30 horas. El fluconazol penetra fácilmente en líquidos corporales, incluidos esputo y saliva. Las concentraciones en LCR son de 50 a 90 % de los valores simultáneos en plasma. El intervalo entre una dosis y la siguiente debe aumentarse de 24 a 48 horas si la depuración renal de creatinina es de 21 a 40 ml/min, y a 72 horas si es de 10 a 20 ml/min. 11 a 12% del fármaco se une a proteínas plasmáticas.

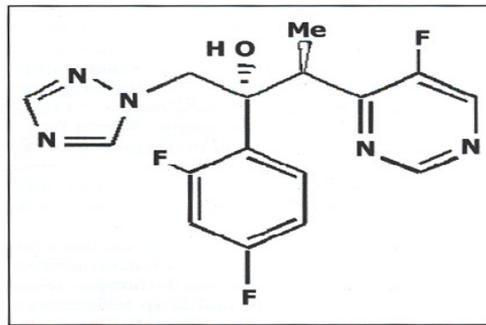
Interacciones farmacológicas: Fluconazol aumenta los valores plasmáticos de difenilhidantoína, zidovudina, rifabutina, ciclosporina, sulfonilureas, warfarina, pero modifica poco el metabolismo de teofilinas y anticonceptivos orales. Fluconazol se presenta en viales para infusión endovenosa en solución salina, así como preparados orales. Actualmente se dispone en los Estados Unidos de una preparación en suspensión. Las dosis van desde 50 a 400 mg una vez al día, y son idénticas las dosis por vía oral y vía endovenosa.

Efectos adversos: dosis mayores de 200 mg/día producen náuseas y vómitos, cuando se ameriten dosis mayores es prudente usar antieméticos, lo cual puede disminuir la biodisponibilidad del fármaco. Otros efectos son cefaleas 1,9%, erupciones cutáneas 1,8%, dolor abdominal 1,7%, diarrea 1,5%⁵¹.

2.1.3.2. Voriconazol

Estructura química.

Estructuralmente a diferencia del fluconazol posee un anillo básico es el imidazol, con dos átomos de nitrógeno, en estos compuestos el núcleo fundamental es el triazol, que presenta tres átomos de nitrógeno. Estas y otras modificaciones en la molécula, como la presencia de átomos de flúor, les confieren una mayor capacidad inhibitoria de las enzimas de la vía de síntesis de los esteroides, especialmente la desmetilasa del lanosterol. Por esta razón, la actividad *in vitro* está mejorada y su espectro ampliado a especies fúngicas.



Farmacodinamia. Es un triazol de segunda generación de amplio espectro derivado sintético del fluconazol. Inhibe el citocromo P450 dependiente de 14 lanosterol demetilasa, la enzima requerida para la síntesis de ergosterol. Esta enzima es importante en la producción y mantención de la pared celular fúngica. Voriconazol es mucho más potente inhibidor de la enzima fúngica que fluconazol, resultando en un amplio espectro antifúngico.

Espectro de acción. El Voriconazol es fungistático contra *Cándida spp*, siendo activo frente a *Cándida*, incluyendo las especies *C. glabrata* y *C. krusei* que son resistentes a fluconazol, aunque frente a éstas las CIM son mayores que para otras especies de *Candida*. Tiene actividad fungicida contra la mayoría de las especies de *Aspergillus* incluyendo *A. terreus*. También tiene una buena actividad contra hongos dismórficos (*Coccidioides sp*, *Histoplasma sp*, *Blastomyces sp*, etc). Casos reportados *in vitro* sugieren buena actividad contra *Penicillium sp*, *Fusarium sp*, *Scedosporium sp* y *Phaeohiphomicosis* pero no es activo frente a *Zygomycetes sp*.

Farmacocinética El voriconazol presenta una gran biodisponibilidad oral (95%), lo que hace que se comporte de forma muy similar a la administración endovenosa. El pico de concentración sérica se alcanza al cabo de 1-2 horas si se ingiere con una comida rica en grasa y no disminuye con la administración conjunta de cimetidina, omeprazol u otros inhibidores de la secreción ácida gástrica. La distribución tisular es muy buena, y se alcanzan concentraciones en el líquido cefalorraquídeo cercanas al 50% de las séricas. La farmacocinética del voriconazol no es lineal, puesto que su metabolismo sigue un patrón de saturación. A las dosis normales, el estado de equilibrio estacionario (*steady state*) se alcanza tras varios días, por lo que se utilizan dosis de carga iniciales más altas, de forma que se llegue a este estado en 24 horas.

El voriconazol tiene metabolismo hepático, mediante el sistema de enzimas del citocromo P450, al igual que muchos otros fármacos, de ahí la potencial interferencia (ver más adelante). Los productos metabólicos son inactivos. El isoenzima más importante de este sistema implicada en el metabolismo del voriconazol es CYP2C19, que presenta polimorfismo genético, por lo que existe variabilidad individual o poblacional (por ejemplo, los asiáticos) que conduce a niveles plasmáticos más elevados y prolongados (metabolizadores lentos). Por estas razones, es conveniente ajustar las dosis en caso de insuficiencia hepática y, si esta es muy grave, restringir el uso de estos compuestos a los casos en que no exista otra alternativa terapéutica. La eliminación renal es muy baja y no se requieren ajustes de dosis orales en presencia de insuficiencia renal. La formulación endovenosa incluye un excipiente (ciclodextrina) que sí se ve afectada, por lo que también habrá que vigilar la función renal durante la administración por esta vía.

Toxicidad y efectos adversos. A pesar de que el voriconazol no se ha empleado de forma amplia, comenzamos a tener datos consistentes sobre su seguridad. En general, todo indica que este fármaco es bien tolerado y ciertamente mejor que la anfotericina en los ensayos comparativos. Los efectos adversos más frecuentes, observados tanto en las fases preliminares de investigación como en los estudios clínicos, consisten en alteraciones visuales, hepáticas y dermatológicas lo que, sólo en reducidas ocasiones, provoca la suspensión del tratamiento.

Otros efectos adversos incluyen la fiebre, náuseas y vómitos, dolor de cabeza, alucinaciones y confusión, igualmente moderados y transitorios.

Las alteraciones visuales son las más frecuentes, llegando a presentarse en la hasta en el 30% a 45% de los pacientes tratados con voriconazol en el ensayo de Herbrecht *et al* antes mencionado. Los pacientes presentan visión borrosa, alteraciones de la percepción visual y de los colores, y fotofobia. Por lo general, todas estas alteraciones son moderadas y se han resuelto sin intervenciones.

La toxicidad hepática se puede presentar hasta en un 13%. Debido a su metabolización a través del citocromo P450 el potencial de interacciones farmacológicas es elevado y probablemente, la causa más importante de suspensión del tratamiento. En ocasiones ha conducido al fallo hepático y a la muerte del paciente. Se pueden observar elevaciones de las transaminasas por encima de tres veces la cifra normal que vuelven a la situación

basal con la suspensión del tratamiento o con la reducción de la dosis, si bien no existe mucha experiencia respecto a la modificación de la pauta de dosificación. Dada la potencial gravedad de esta complicación, es obligado el seguimiento de la función hepática antes y durante el tratamiento farmacológico.⁵¹

2.1.3.3. Presentación Dosis y vía de administración azoles.

La presentación y dosis de los antimicóticos empleados en candidiasis protésica son:

- **Miconazol** Gel oral V.O. 1/2 medida. 4/día. Niños mitad de la dosis.
- **Ketoconazol** Comp. 200 mg. V.O. 200-400 mg-día, 5 días. Dosis max. 1 gr.
- **Fluconazol** Comp. 50/100/150 mg. V.O. 50-400 mg/día, 7 a 14 días.
- **Itraconazol** Comp. 100 mg. V.O. 1/día, 5 días.

2.1.3.4. Resistencia de la *Cándida spp* a los antimicóticos azólicos.

Desde la perspectiva clínica, la resistencia antimicótica puede definirse como la persistencia o progresión de una infección a pesar de la terapia adecuada. Los resultados clínicos del tratamiento dependen de la sensibilidad del patógeno a un cierto fármaco y a factores como la farmacocinética, interacciones farmacológicas, sistema inmunológico y cumplimiento por parte del paciente. La resistencia puede determinarse como la concentración inhibitoria mínima que restringe el crecimiento de hongos in vitro. Sin embargo, este parámetro en oportunidades sólo pronostica el resultado clínico. Las diferencias en las sensibilidades a los antimicóticos entre patógenos, poblaciones y especies reflejan distintas escalas de tiempo de evolución. La resistencia antibiótica puede ser primaria, cuando el hongo es resistente a una droga antes de su exposición, o secundaria, cuando un agente inicialmente sensible se hace resistente luego de la exposición. Las especies de hongos presentan diferentes sensibilidades intrínsecas frente a distintos fármacos. Muchas especies evidencian un amplio espectro de sensibilidades a determinada droga, con genotipos sensibles y resistentes. Poblaciones de especies podrían haberse adaptado a la droga luego de su exposición en cualquier momento de su historia. Según la magnitud de la *Cándida* resistente, el fenotipo de resistencia puede persistir en ausencia del antimicótico. Los genotipos resistentes pueden ser transmitidos entre pacientes de un hospital y entre parejas sexuales. En la escala evolutiva más contemporánea se encuentra el surgimiento de resistencia en una población de levaduras inicialmente sensible que se adapta a la droga en un paciente a lo

largo del tratamiento. La resistencia a los polienos en general está asociada con la alteración de los lípidos de membrana, especialmente esteroides. La resistencia a los azoles está relativamente diseminada, especialmente en *Cándida albicans* y *Cándida dubliniensis*. La resistencia a los azoles se encuentra asociada con la sobreexpresión de la enzima ERG11 y mutaciones de otras enzimas que actúan en la síntesis del ergosterol, con eliminación activa de la droga por sobreexpresión de las bombas de flujo y disminución de la permeabilidad de membrana por alteraciones en los esteroides.

2.1.3.4.1.. Mecanismos de resistencia al fluconazol.

Los derivados triazólicos como el FCZ inhiben de forma selectiva la enzima 14 α esteroil demetilasa en la síntesis del ergosterol, que es dependiente del citocromo p450. La depleción del ergosterol, en conjunto con la acumulación de compuestos intermedios en la síntesis del mismo, conlleva a una pérdida de la funcionalidad de la membrana plasmática. Se describen tres posibles mecanismos en la génesis de la resistencia: el **primero** es la modificación de la enzima blanco; el **segundo**, la incapacidad de alcanzar concentraciones adecuadas del antibiótico en el sitio de acción por la presencia de barreras de permeabilidad o sistemas de bombas de eflujo activo; y **por último**, la inactivación del antibiótico por modificación del mismo. De todos éstos, en el caso de los azoles, sólo se conocen los dos primeros como potenciales causas de resistencia.

En las especies de *Cándida* y en muchos otros hongos, el gen ERG11 se encarga de la síntesis de la Erg11p o la enzima 14 α demetilasa indispensable para la síntesis del ergosterol. La resistencia a los azoles se ha descrito en aislamientos clínicos en los que se demuestra una disminución de la expresión de dicha enzima o la presencia de mutaciones específicas que la afectan en su estructura o función; y puede ser inducida por regulación negativa de su síntesis tras la exposición prolongada al fluconazol. Otras enzimas involucradas en la síntesis del ergosterol como la Δ 5 – 6 desaturasa pueden también ser responsables de este fenómeno.⁵²

En relación con el sistema de transporte activo a través de bombas y con base en modelos experimentales con otras levaduras no patógenas como *Sacharomyces cerevisiae*, se ha logrado determinar la presencia de un conjunto de genes denominados factores de resistencia múltiple o pleiotrópica a fármacos (PDR: Pleiotropic Drug Resistance) dado que confieren resistencia a múltiples medicamentos sin ninguna semejanza estructural definida. El primero de ellos definido en *Candida spp.* fue MDR1, el

cual codifica una proteína MDR1p que pertenece a una superfamilia de proteínas transportadoras transmembranales con 6 dominios, (MFS: *Major Facilitators Superfamily*). Se ha demostrado en ratones que la sobreproducción de esta proteína confiere resistencia al FCZ.

Otros de los genes caracterizados se denominan CDR1 y CDR2 que codifican una proteína transportadora del tipo ABC (ATP Binding Cassette), también de tipo multifuncional para una variedad de compuestos. En relación con estos rasgos de resistencia adquiridos, se sabe, por ejemplo, que algunos de estos además se relacionan no sólo con resistencia a los azoles sino con mayor virulencia de la levadura, como ocurre en el caso de *C glabrata* con sobreexpresión de la mutación CgPDR1⁵³

La evidencia a favor de estos mecanismos de resistencia se apoya en la presencia de aislamientos clínicos de pacientes con SIDA sometidos a terapia con FCZ por largos periodos de tiempo con niveles hasta diez veces mayores de los habitualmente presentados para productos como la proteína sintetizada de CDR1, y la mayor susceptibilidad de las cepas al FCZ y otros azoles cuando se produce delección de estos genes.⁵⁴

2.1.3.4.2. Mecanismo de acción y de Resistencia al voriconazol.

Como todos los azoles, los derivados triazólicos ejercen su actividad a través de la inhibición de algunos de los numerosos pasos que conducen a la síntesis del ergosterol y de otros esteroides. Estos compuestos son componentes estructurales fundamentales de la membrana fúngica y cada uno de ellos tiene funciones específicas. Por lo que respecta al ergosterol, ningún otro compuesto puede asumir las suyas y reemplazarlo. Varios son los pasos de la síntesis del ergosterol sobre los que actúan los triazoles y el voriconazol en particular. De ellos, el más importante es el bloqueo de la enzima 14-lanosterol desmetilasa dependiente del citocromo P450 que, como su nombre indica, escinde un grupo metilo del lanosterol y produce un intermediario que es, a su vez, sustrato para un paso sucesivo de la síntesis. Además, el voriconazol y los otros nuevos triazólicos inhiben pasos posteriores de la vía sintética hacia el ergosterol.

En ausencia de esta vía, las células activan otras vías alternativas, pero que son menos eficaces y que, en mayor o menor medida, también son inhibidas por los azoles. Además del efecto producido por la ausencia de ergosterol, la acumulación de precursores tiene

un efecto tóxico directo sobre las células fúngica. Las diferencias de espectro que muestran los distintos compuestos azólicos, y en particular la superior actividad *in vitro* de los nuevos triazoles, se explican por la mayor afinidad de estos compuestos sobre las enzimas de la vía del ergosterol de las distintas especies de hongos.

Hay que resaltar que la vía de síntesis del ergosterol es también una vía funcional en las células del hospedador, al igual que el sistema de isoenzimas del citocromo P450. Por esa razón, los derivados azólicos no han estado exentos de toxicidad, en ocasiones grave, muy en particular la toxicidad hepática. Los nuevos derivados han mejorado el perfil tóxico al incrementar la afinidad por las enzimas del hongo, del orden de 250 veces más, en detrimento de las homólogas celulares.

Su acción sobre el citocromo P450 es responsable de las numerosas interacciones medicamentosas que presentan estos compuestos, entre las que hay que citar a fármacos muy utilizados en el manejo de los pacientes con sida (antirretrovirales, rifampicina y rifabutina, etc.) o de trasplantados (ciclosporina, tacrolimus, sirolimus), precisamente dos poblaciones particularmente de riesgo para las micosis invasoras. El efecto ha podido ser mitigado porque las modificaciones estructurales introducidas en las moléculas de los triazoles conducen a una disminución marcada de estos compuestos sobre la afinidad con los sistemas P450 celulares.

El desarrollo de la resistencia a los azoles es un fenómeno bien conocido en los hongos del género *Cándida*. Además, algunas de las especies de este género, como *Cándida krusei*, presentan resistencia intrínseca al fluconazol. En épocas pasadas, el desarrollo y selección de resistencias al fluconazol en el curso del tratamiento ha sido bien demostrado, especialmente en el contexto de los pacientes con sida o sometidos a tratamientos prolongados. La supresión de la profilaxis secundaria de las infecciones por *Cándida* en estos pacientes ha disminuido el riesgo de selección de variantes resistentes al fluconazol y a los nuevos compuestos que se han comercializado en los últimos años. No obstante, algunos análisis retrospectivos de cepas de archivo procedentes de pacientes con candidiasis tratada con fluconazol han puesto manifiesto que la resistencia cruzada es un hecho y que todos los nuevos derivados presentan sensibilidad disminuida, pues no en vano comparten con aquél los mecanismos de acción y de resistencia.

Por lo que respecta a los hongos filamentosos, en especial *Aspergillus*, hasta el momento no se conocen fallos terapéuticos atribuibles a la selección de cepas resistentes en el curso del tratamiento, aunque sí ha sido posible obtenerlas por pases sucesivos en el laboratorio. Existe además el riesgo potencial de que se seleccionen resistencias a los azoles por la utilización de productos de esta familia como agentes fitosanitarios en la producción agrícola de cereales, puesto que las infecciones por *Aspergillus* y otros hongos filamentosos son fundamentalmente, de origen exógeno.

Varios son los mecanismos por los cuales las células fúngicas adquieren resistencia a los azoles, todos ellos demostrados en cepas de laboratorio y, en muchas ocasiones, también en cepas clínicas: a) modificaciones del gen *ERG11* codificante de la 14-lanosterol desmetilasa, que produce enzimas con menor afinidad por estos compuestos, b) la sobreexpresión del gen anterior, c) la activación, por parte del hongo, de vías metabólicas alternativas aunque, como se ha dicho, son menos eficientes y también son bloqueadas por los nuevos azoles, y d) la inducción de sistemas de expulsión activa. La mayor parte de estudios están circunscritos a las levaduras, pero también se conoce sistemas de resistencia similares en hongos filamentosos.

2.1.4. Resistencia

2.1.4.1. Resistencia antifúngica

Resistencia microbiológica. Se define como el crecimiento del microorganismo infectante o el patógeno es inhibido por una concentración del agente antimicrobiano más alta que el rango observado para cepas silvestres. *Resistencia clínica:* el microorganismo infectante es inhibido por una concentración de agente antimicrobiano que se asocia con una alta probabilidad de falla terapéutica (no inhibido con las concentraciones alcanzadas con dosis normales de antifúngico), observándose una persistencia o progresión de una infección a pesar de la terapia adecuada.

Mecanismos de resistencia. Los mecanismos de resistencia antifúngica pueden ser primarios y secundarios y dependen de las características intrínsecas o adquiridas de los patógenos fúngicos. Varios mecanismos conducen a una resistencia adquirida a azoles, siendo el más común la inducción de bombas de flujo codificadas por los genes *MDR* o *CDR*, y la adquisición de mutaciones puntuales en el gen que codifica para la enzima

blanco de estos fármacos (gen *ERG11*). Si hay sobreexpresión de bombas de eflujo y mutaciones de *ERG11*, el nivel de resistencia a voriconazol y fluconazol es mucho más alto (efecto aditivo). La resistencia adquirida de especies de *Candida* a equinocandinas es típicamente mediada por mutaciones en los genes *FKS* que codifican para la subunidad mayor del enzima blanco de estos antifúngicos (1,3- β -D glucan sintetasa). En hongos filamentosos como *Aspergillus*, la resistencia a azoles está primariamente asociada a mutaciones de gen *Cyp51A*, mientras que la resistencia a equinocandinas a mutaciones en el gen *FKS1*.

Hay tres tipos de resistencia microbiológica:

Resistencia intrínseca: Es aquello en la cual ningún miembro de la especie es sensible al fármaco ej como la resistencia de *C. krusei* al fluconazol. Se presenta antes de cualquier exposición a antifúngicos.

Resistencia primaria: es cuando una cepa de una especie que normalmente es sensible, muestra resistencia a un agente antifúngico sin haber tenido contacto previo con este compuesto. Se puede explicar por mutaciones puntuales que ocurren al azar. Un ejemplo de este tipo de resistencia es la reportada en *C. albicans* a la 5-fluorocitosina o *C. lusitanae* y *C. guilliermondii* a la anfotericina B.

Resistencia secundaria: Se puede considerar la más interesante desde el punto de vista clínico, porque ocurre en una cepa previamente sensible que adquiere resistencia al fármaco después de haber estado en contacto con este compuesto, se puede deber a alteraciones fenotípicas o genotípicas que se manifiestan de forma estable o transitoria. Como es el caso de *C. albicans* a la 5-fluorocitosina y al fluconazol (Sanglard *et al.*, 1995; White *et al.*, 1998; Sanglard, 2002, Mellado *et al.*, 2002).

A pesar de que la resistencia a la anfotericina B es rara, existen reportes de casos de resistencia secundaria en *C. albicans*, y de resistencia primaria en *C. lusitanae* y *C. guilliermondii* (Vanden Bossche, 1997; Sterling y Mertz, 1998). Los primeros reportes de resistencia a los azoles fueron descritos por Holt y Azmi en 1978, quienes reportaron cepas del género *Cándida* resistentes al miconazol. A partir de ese momento se han tratado de identificar los mecanismos involucrados en la resistencia a antifúngicos, entre los que se encuentran los siguiente⁵⁶

1. **Desplazamiento de las especies de *Cándida* endógenas por especies más patógenas y resistentes.** Debido a la poca diversidad de fármacos que existe para tratar las infecciones fúngicas, se ha utilizado indiscriminadamente la terapia con antifúngicos azólicos y polienos, situación que ha generado en las últimas décadas una colonización de especies menos susceptibles a estos fármacos como por ejemplo *C. glabrata* resistente a los triazoles (fluconazol), además ha contribuido a la selección de subpoblaciones resistentes que antes eran susceptibles como es el caso de *C. albicans*⁵⁷

2. **Mutaciones en la enzima lanosterol desmetilasa (Erg11p).** Existen 21 mutaciones puntuales en la enzima reportadas hasta el momento, por ejemplo R467K (cambio de arginina por lisina en la posición 467) (White *et al.*, 1998). Al parecer estas mutaciones confieren resistencia a los antifúngicos, porque implican una sustitución de aminoácidos ya sea en el sitio activo o en el sitio de reconocimiento de la enzima Erg11p por los azoles. (White *et al.*, 1998; Favre *et al.*, 1999; Sanglard *et al.*, 2003; Marie y White, 2009).

3. **Mutaciones en la enzima $\Delta 5, 6$ desaturasa (Erg3).** Esta enzima es la responsable de la producción y acumulación de un precursor del ergosterol que es tóxico para las levaduras, es el 14α -metil-3-6-diol (intermediario en la biosíntesis de ergosterol), que en conjunto a la falta de ergosterol en la membrana causa la inhibición del crecimiento cuando existe la terapia antifúngica. Yan y colaboradores en 2008, reportaron la sustitución D19E (cambio de ácido aspártico por ácido glutámico en la posición 19) que es una mutación puntual en Erg3p, produce la inhibición de la enzima y confiere resistencia a los azoles en la cepa aislada, dando lugar a la acumulación de un esteroide tóxico para la célula, que es el 14α -metilfecosterol.

4. **Sobreexpresión del gen ERG11 y de otros genes involucrados en la biosíntesis del ergosterol.** Upc2p es un factor transcripcional involucrado en la regulación de la expresión de ERG11 y otros genes involucrados en la biosíntesis del ergosterol. Oliver en 2007 reportó la existencia del elemento CIS regulador en el promotor de ERG11, el cual es regulado por el factor de transcripción Upc2. Se cree que el factor transcripcional se autoactiva en respuesta a una disminución en la concentración de ergosterol en la membrana (efecto ocasionado por los azoles). Upc2 activado actúa en el elemento CIS de respuesta a azoles (Azole Response Element - ARE por sus siglas en inglés) provocando la sobreexpresión de ERG11, como consiguiente un aumento en la

biosíntesis de ergosterol para contrarrestar la acción de los azoles. El cambio del aminoácido glicina por aspartato en la posición 648 en Upc2p (G648D), esta reportada como una mutación puntual, adquirida durante la terapia con azoles y que ocasiona la sobreexpresión constitutiva de ERG11 y de otros genes involucrados en la biosíntesis de ergosterol provocando cepas resistentes de *C. albicans* (Oliver *et al.*, 2007; Dunkel *et al.*, 2008; Znaidi *et al.*, 2008)⁵⁸

Reducción de la acumulación intracelular de los antifúngicos azólicos. En las especies de *Candida*, una de las principales causas de resistencia a azoles es la sobreexpresión de los genes que codifican a los transportadores de unión a ATP (transportadores ABC; Cdr1p y Cdr2p) y los facilitadores principales o transportadores de múltiples fármacos (Mdr1p), estos transportadores tienen la función de exportar de la célula los fármacos que se encuentran en el citoplasma. Actualmente se han reportado los factores de transcripción relacionados con la sobreexpresión de estos transportadores⁵⁹.

a. **Transportadores ABC.** Tac1p es un factor de transcripción que se une a un elemento CIS de respuesta a drogas (Drug Response Element -DRE por sus siglas en inglés) ubicado en el promotor de los genes CDR1 y CDR2. Tac1p se encuentra regulando la inducción de la expresión de estos genes. Se han reportado mutaciones que ocasionan la sobreexpresión constitutiva de CDR1 y CDR2, esto ocasiona la exportación excesiva de los antifúngicos evitando que alcancen su sitio de acción⁶⁰

Mutaciones puntuales en Tac1p.

N977D Asparagina por ácido aspártico en la posición 977

N972D Asparagina por ácido aspártico en la posición 972

G980E Glicina por ácido glutámico en la posición 980

A736V Alanina por valina en la posición 736

T225A Treonina por alanina en la posición 225

b. **Transportadores de múltiples fármacos.** Mrr1p es un factor de transcripción que induce la expresión de los genes que codifican los transportadores principales (Mdr1p) en *Cándida* spp. Se han identificado diferentes mutaciones puntuales (Tabla II) que están relacionadas con la resistencia a antifúngicos, debido a que ocasionan una

sobreexpresión constitutiva del gen MDR1 en *Cándida* (Harry *et al.*, 2005; Morschhäuser *et al.*, 2007; Dunkel *et al.*, 2008; Schubert *et al.*, 2008; Marie y White, 2009⁶¹)

Mutaciones reportadas en Mrr1p.

K335N Lisina por Asparagina en la posición 335
 T360I Treonina por isoleucina en la posición 360
 P683S Prolina por serina en la posición 683
 P683H Prolina por histidina en la posición 683
 G878E Glicina por ácido glutámico en la posición 893
 W893R Triptófano por arginina en la posición 893
 G997V Glicina por valina en la posición 997
 Q350L Glutamina por leucina en la posición 350
 T381I Treonina por isoleucina en la posición 381
 N803D Asparagina por ácido aspártico en la posición 803
 R863T Arginina por triptófano en la posición 863
 A880E Alanina por ácido glutámico en la posición 880
 T896I Treonina por isoleucina en la posición 896
 L998F Leucina por fenilalanina en la posición 998

c. **Pérdida de la penetración de la droga.** Debido a cambios en la permeabilidad en la membrana celular causada por alteración de los niveles de ergosterol, etanolamina y fosfatidilcolina. **Producción de biopelículas.** Los biofilms o biopelículas son comunidades microbianas, bien estructuradas y embebidas en una matriz extracelular de sustancias producidas por las células que integran dicha comunidad. Están relacionadas a infecciones micóticas, por lo general cuando existen dispositivos médicos tales como catéteres venosos, sondas urinarias entre otros. Estas comunidades microbianas utilizan los siguientes mecanismos para evadir la acción de los antifúngicos azólicos y polienos: se ha descrito una disminución en la difusión de la droga al incrementar la producción de β -1,3 glucanos en la pared celular, estos compuestos se asocian al secuestro de fluconazol⁶² fisiológicamente obstaculizan o disminuyen la velocidad de crecimiento, también activan y sobreproducen los transportadores que expulsan del citoplasma los fármacos (transportadores ABC y facilitadores principales), mediante la alteración de los esteroides en la membrana celular y también utilizan la expresión de patrones diferenciales en comparación con los que no se encuentran en las biopelículas.⁶³

7. **Aneuploidía.** Ocasionado por el incremento del número de copias de un gen o por la duplicación de todo un cromosoma, también se debe a otros rearrreglos cromosomales. Estas alteraciones se presentan en situaciones de estrés, por ejemplo, la administración continua de antifúngicos. Últimamente se ha identificado un isocromosoma asociado a la resistencia a azoles en *C. albicans*, éste consiste en dos brazos izquierdos del cromosoma 5 unidos cabeza con cabeza. La resistencia se debe a que en el cromosoma 5 se encuentran los genes que codifican a Tac1p y Erg11p⁶⁴ (Marie y White, 2009).

2.1.4.2. Métodos empleados para identificar la resistencia de la *Cándida spp* a los azoles

Métodos para la detección de resistencia: Los métodos disponibles son los estándares CLSI y EUCAST. Ambos son similares; utilizan la microdilución en caldo, aunque difieren en el tamaño del inóculo y en los puntos de corte para interpretar la susceptibilidad. Ambos estándares han sido armonizados para ser concordantes en la medición de CIMs de azoles y equinocandinas contra *Candida*. Ambos métodos permiten discriminar cepas susceptibles silvestres (que no han adquirido resistencia) y cepas resistentes (que exhiben mecanismos de resistencia intrínseca o adquirida). Además el CLSI ha estandarizado la medición de susceptibilidad mediante difusión en disco, existiendo puntos de corte para fluconazol y voriconazol contra *Candida*. Los métodos comerciales validados contra el método CLSI y aprobados por la FDA son Sensititre YesOne colorimetric plate®, Vitek 2 yeast susceptibility test® y Etest®.

Método de difusión en disco M44-A

La utilidad de los métodos de sensibilidad basados en la difusión del antifúngico a partir de discos o tabletas ha estado limitada por los problemas de difusión en agar de los mismos y por su falta de correlación con la clínica. Se ha encontrado correlación con fluconazol y voriconazol entre los halos de inhibición de discos de 25 µg (fluconazol) y 1 µg (voriconazol: Becton Dickinson, Wheadtridge, Colo.) y las CMI obtenidas por el método M27-A3. En 2003, el CLSI estandarizó el método de difusión-disco (documento M44-P) y en 2004 publicó el documento definitivo (documento M44-A) para *Candida spp.* con fluconazol y voriconazol.

Está basada en el estudio la sensibilidad de las levaduras a los antifúngicos en función del halo de inhibición producido por la difusión del antifúngico en un medio de cultivo

sólido. Los pasos a seguir son los mismos que para las bacterias pero con algunas modificaciones. Emplea el Mueller Hinton agar (MHA) suplementado con 2% de glucosa y 0,5 µg/ml de azul de metileno (pH 7,2 - 7,4). Se prepara el inóculo tocando con el asa de cultivo 5 colonias \square 1 mm y de 24 h de crecimiento en placa de SDA que se resuspenden en un tubo de solución salina estéril (CINa 0,85%) como se ha descrito para el método M27-A3. Se agita bien y con ayuda de un espectrofotómetro (longitud de onda: 530 nm), se ajusta a una densidad óptica 0,5 McFarland, añadiendo la cantidad necesaria de solución salina. Esta solución tiene una concentración aproximada de 1×10^6 - 5×10^6 UFC/ml

Lectura e interpretación de los resultados Si no hay suficiente crecimiento a las 24 h reincubar y leer a las 48 h. Medir el halo de inhibición donde se produce una reducción importante del crecimiento. La lectura es subjetiva y se requiere experiencia para dar medidas exactas. La presencia de micro colonias en el borde del halo de inhibición o de colonias grandes en el interior del halo deben ser ignoradas. *C. glabrata* y *C. krusei*, pueden necesitar 48 h de incubación

Método de Etest ®

Etest ® es un método de difusión en agar, que consta de una tira con una gradiente de concentración de antifúngico y que permite cuantificar, mediante la lectura de un elipse de inhibición, la concentración mínima inhibitoria (CMI). Este método ha demostrado una buena concordancia con el método de referencia en diversos estudios

Ha sido ampliamente usado para ensayos de susceptibilidad de bacterias así como también de agentes antifúngicos tales como anfotericina B, cetoconazol, itraconazol, fluconazol, voriconazol y 5 fluorocitosina⁶⁵ .

Uno de los problemas más frecuentes en los estudios de susceptibilidad a antifúngicos, es efecto de "arrastre" (trailing effect) que presentan algunas cepas fundamentalmente con azoles (drogas fungistáticas) y que en el caso de Etest ® corresponde a la presencia de microcolonias alrededor o dentro del área de inhibición que dificultan la lectura de la CMI. Este fenómeno se observa también en el método de microdilución en caldo como un crecimiento sostenido de colonias en todos los pocillos del gradiente de antifúngico.⁶⁶

El grado de concordancia entre Etest ® y el método de referencia, depende del medio utilizado para realizar la técnica, siendo los medios más recomendados RPMI 1640 (2%

glucosa) y Casitona. El uso de estos medios enriquecidos, permite el óptimo crecimiento de las especies, mejora la lectura de los halos (punto de corte) y el fenómeno de trailing se minimiza.

Método de macrodilución

El método de macrodilución es el más ampliamente usado y es el método de referencia para células levaduriformes y es el propuesto por el CLSI. Este método es adecuado para evaluar todos los agentes antifúngicos en cualquier aislamiento fúngico. Este método se utiliza en laboratorios en los cuales el volumen de estas pruebas es bajo. También es útil en aquellas cepas de *C. albicans* en las que se duda en establecer la CMI por el método de microdilución, debido al crecimiento en las concentraciones superiores a la CMI (*trailing effect*)

El medio de cultivo que se utiliza se define como un medio sintético y actualmente, se está utilizando el caldo RPMI 1640 con L-glutamina y un indicador de pH sin bicarbonato de sodio. Dicho medio es bufferizado a pH 7,0 a 25°C. Un buffer que da resultados satisfactorios para pruebas antifúngicas es el MOPS (ácido morfopropilen sulfónico) el cual tiene una molaridad final de 0,165 para un pH de 7,0. Este medio es apropiado para Anfotericina B, 5-fluorocitosina y azoles y es el recomendado a emplear cuando se realiza una prueba de susceptibilidad contra especies de *Cándida* y varios hongos filamentosos. No obstante, el RPMI 1640 no es adecuado para soportar el crecimiento de algunas cepas de *Cryptococcus neoformans* y no permite distinguir aislamientos susceptibles de algunas cepas potencialmente resistentes a anfotericina B⁶⁸.

Método de microdilución.

Las pruebas antifúngicas usando el método de microdilución es similar al de la prueba de la macrodilución y provee resultados comparables. Estas pruebas por microdilución no se usan con frecuencia como las pruebas de macrodilución. Sin embargo un estudio reportado por el CLSI ha demostrado discrepancias entre las dos pruebas; macro y microdilución. Estas diferencias entre las dos pruebas no son estadísticamente significativas y es muy posible que la utilización de la microdilución sea más fácil y eficiente en un laboratorio clínico. Además de las pocas discrepancias entre las dos pruebas, existe común acuerdo entre los diferentes laboratorios, que las pruebas de microdilución proveen una CMI más consistente.

El test de microdilución está diseñado para ser usado con placas de 96 pozos, que deben ser estériles y con fondo plano o en U. Con una pipeta multicanal se dispensan volúmenes de 100 ul de la concentración 2x de la droga y se colocan desde el pozo 1 al 10, empezando por la concentración más alta y así sucesivamente hasta la concentración más baja. El pozo del tubo control contiene 100ul de medio sin droga estéril y se inocula con 100 ul de suspensión diluida 2x de inóculo⁶⁸

Las placas para microdilución se incuban a 35°C y los pozos se observan con la ayuda de un espejo lector, el crecimiento de cada pozo es comparado con el crecimiento del pozo control negativo (sin droga). Para caracterizar cada pozo se utiliza un puntaje con un rango numérico que va en una escala de 0 a 4: 0 ópticamente claro o transparente; 1 ligeramente turbio; 2 prominente incremento en la turbidez; 3 ligera reducción en la turbidez; 4 no reducción en la turbidez. La CMI para anfotericina B se define como la menor concentración de droga, en la cual el puntaje es 0 (ausencia completa de crecimiento), y para la 5-fluorocitosina y los azoles se describe como la mínima concentración en la cual se observa un puntaje de 2⁶⁸

Métodos comerciales: Método colorimétrico Sensititre® Yeastone

Este método se diferencia del creado por el CLSI por utilizar un indicador de crecimiento de oxidorreducción (azul Alamar) comercializado, que tiene la ventaja de que la lectura de los puntos finales es más objetiva al manifestarse por un cambio de color de azul a rojo o púrpura, pero los azoles siguen siendo los más problemáticos de leer. La correlación es también variable según los estudios (43% a 100%), siendo menor para *C. krusei* con 5-fluorocitosina y *C. glabrata* y *C. tropicalis* con fluconazol y mayor para *C. krusei* y *C. tropicalis* con anfotericina B y *C. krusei* con itraconazol. La lectura a las 24 horas ofrece mejor correlación con la clínica, excepto con anfotericina B, que se aconseja leer a las 48 horas. Este método no parece útil para la detección de cepas resistentes a la anfotericina B ⁶⁹.

Por lo tanto, varias modificaciones del método standard del NCCLS han sido evaluadas y adoptadas como una alternativa que puede mejorar las necesidades del laboratorio clínico. Entre estos métodos modificados, la determinación del punto final de la MIC tanto colorimétrica como espectrofotométricamente son particularmente dignos de observar.

Interpretación de los resultados de la CLSI

El CLSI ha establecido diferentes categorías de sensibilidad: sensible, intermedio, resistente y una nueva categoría aplicable a los azoles: sensible dependiendo de la dosis administrada (SDD)

La categoría de sensible no lleva implícito el éxito terapéutico. La categoría de resistente se correlaciona con fracaso terapéutico. La categoría SDD (sensible dependiente de la dosis administrada) para el fluconazol se basa en los niveles de antifúngico que se alcanzan con dosis de 400 mg/día en pacientes con buen funcionamiento renal. Para el itraconazol se basan en una buena absorción de fármaco y que se alcancen niveles en sangre 0,5 µg/ml. En la categoría de intermedio, es sólo aplicable a 5-fluorocitosina, no se sabe con certeza si la cepa es sensible, ya que los datos que se tienen no permiten categorizarla como sensible o resistente⁷⁰.

2.1.5. Factores de riesgo asociados a la presencia de resistencia a los azoles.

Existen 3 patrones de resistencia los cuales son: Primaria o intrínseca la cual se presenta previamente a cualquier exposición a antifúngicos, la secundaria o extrínseca después de una exposición a un antifúngico y la resistencia clínica que abarca progresión o recaída de una infección⁵⁵.

La resistencia clínica es multifactorial porque involucra factores del *hospedero*, del hongo y del antifúngico. Los factores del **hospedero** son: inmunosupresión, sitio de la infección, severidad de la infección (grado de candidiasis), presencia de materiales extraños (portación de prótesis dentales) y mal apego al tratamiento. Los factores dependientes de la **levadura tipo *Cándida*** son: CIM inicial, tipo de crecimiento del hongo (levaduras o pseudohifas), variabilidad genética, formación de biopelículas. Y por último se deben de tomar en cuenta los factores del **antifúngico** como: la capacidad del fármaco de inhibir el crecimiento o producir la muerte celular, la dosis, la farmacocinética y la interacción con otros medicamentos).

El desarrollo de resistencia a los azoles es un proceso complejo en el cual intervienen diversos factores, tanto del huésped como del microorganismo. Entre los factores dependientes del microorganismo figuran mecanismos celulares y moleculares como son

alteraciones en la enzima diana (14- α -desmetilasa de lanosterol) y aumento de la expresión de los transportadores activos de membrana que disminuyen la concentración intracelular de los azoles. Otros factores están representados por la sustitución de la población sensible de *C. albicans* por otra especie, como *C. krusei*, *C. glabrata*, o aislamientos de *C. albicans* inicialmente sensibles que se vuelven resistentes por alteraciones genéticas. Debe considerarse, igualmente, la expresión genética transitoria que origina una cepa temporalmente resistente en presencia del antimicótico y por último, las alteraciones que ocurren en la misma población fúngica (micro evolución)

Resistencia en Especies de *Cándida*.

Varios son los mecanismos por los cuales las células fúngicas de las *Cándida spp* adquieren resistencia a los azoles, todos ellos demostrados en cepas de laboratorio y, en muchas ocasiones, también en cepas clínicas: a) modificaciones del gen *ERG11* codificante de la 14 lanosterol desmetilasa, que produce enzimas con menor afinidad por estos compuestos, b) la sobreexpresión del gen anterior, c) la activación, por parte del hongo, de vías metabólicas alternativas aunque, como se ha dicho, son menos eficientes y también son bloqueadas por los nuevos azoles, y d) la inducción de sistemas de expulsión activa. La mayor parte de estudios están circunscritos a las levaduras, pero también se conoce sistemas de resistencia similares en hongos filamentosos.

Hay varios datos que apoyan el papel que juega el gen *CDR1* en la resistencia a fluconazol en *C. albicans*. En primer lugar, se ha descrito que aislamientos clínicos obtenidos de pacientes de sida sometidos a terapia con fluconazol durante periodos prolongados tienen niveles elevados (hasta 10 veces superiores a los normales) de ARNm de *CDR1*, un aspecto que indica que la sobreproducción de esta bombas es un mecanismo de relevancia clínica. Algunos de estas cepas muestran niveles elevados del ARNm del gen *MDR1*, hecho que también apoya la importancia de *MDR1* en la resistencia. Por otro lado, experimentos de interrupción génica en *C. albicans* han demostrado que la delección de *CDR1* genera cepas más sensibles a diversos antifúngicos, como el fluconazol, itraconazol, ketoconazol, terbinafina, amorolfina y cicloheximida entre otros.⁷³ lo que indica que, aunque no sea esencial para la viabilidad celular, esta proteína es capaz de transportar dichos sustratos al exterior celular reduciendo la concentración intracelular de droga y con ello el efecto inhibitorio deseado. La *C. albicans* presenta defectos en la 5,6-esterol desaturasa pueden generar resistencia

a ketoconazol en una cepa de (cepa Darlington), esta cepa acumula fecosterol que, al ser utilizado como sustrato, puede compensar en parte los efectos nocivos de la acumulación de lanosterol y otros intermediarios tóxicos para la célula.

En la *C. dubliniensis* la adquisición de resistencia se destaca como mecanismo de resistencia más frecuente la sobreexpresión de la proteína Mdr1p (codificada por el gen CdCDR1), mientras que en *C. albicans* la proteína que se sobreexpresa es Cdr1 (gen CDR1-CDR2), para el fluconazol.

El aislamiento de *C. glabrata* de diferentes poblaciones y localizaciones, destaca la mayor frecuencia en los pacientes ancianos (27 %) y con estomatitis debida a prótesis dental (22 a 25 %). La resistencia a los azoles se debe al incremento en la síntesis del ergosterol dependiente del citocromo P-450 y a la existencia de una bomba de flujo activa para el fluconazol. Cuando se habla de resistencia a los antifúngicos suelen mezclarse dos conceptos diferentes: por un lado, la ausencia de una respuesta clínica a las dosis terapéuticas del fármaco y, por otro, la presencia de CMI elevadas para el antifúngico. En el primero, la falta de respuesta terapéutica suele estar asociada al estado de inmunodepresión del enfermo o a biodisponibilidad insuficiente del fármaco. En el segundo, la resistencia puede ser primaria (innata) o secundaria (adquirida) al antifúngico administrado.

La *Cándida glabrata* produce un el aumento en la actividad de la 14 alfa Desmetilasa. Posee 11 cromosomas y debido a su carácter haploide, se considera que *C. glabrata* tiene mayores posibilidades de presentar mutaciones que otras especies diploides como *C. albicans*.

El hecho de que *C. glabrata* sea una levadura haploide podría favorecer el desarrollo de resistencias secundarias. La aparición de resistencia cruzada con otros azoles como el itraconazol, ketoconazol y voriconazol no es infrecuente. Al contrario que otras levaduras del género, *C. glabrata* es por lo general muy sensible a 5-fluorocitosina.

El fluconazol es uno de los agentes más utilizados en candidiasis subprotésica. *C. glabrata* presenta la capacidad de desarrollar rápidamente resistencia a este medicamento. El estudio muestra un alto porcentaje de resistencia de *C. glabrata* al fluconazol (68.2 % en sensidiscos y 51.2 % en microdiluciones). La resistencia mostrada por *C. glabrata* está en relación con el incremento de su frecuencia y la ha hecho un

factor importante en procesos infecciosos nosocomiales de pacientes de las unidades de cuidados intensivos y pacientes inmunodeprimidos.⁷⁴

Cada una de las especies no albicans se asocia a una subpoblación de pacientes; por ejemplo, *C. glabrata* se asocia principalmente a pacientes ancianos o con algún proceso oncológico subyacente; *C. tropicalis* se asocia a pacientes neutropénicos o con leucemia; *C. parapsilosis* se asocia a neonatos o al uso de catéteres intravenosos de manera crónica y *C. krusei* es más frecuente en pacientes con trasplante de médula ósea o pacientes con leucemia que recibieron tratamiento profiláctico con fluconazol.

La importancia de esta transición radica en la resistencia incrementada o a la disminución de la sensibilidad al fluconazol de algunas especies; tal es el caso de *C. glabrata* y *C. krusei*; además existen cada vez más reportes de resistencia al fluconazol en especies típicamente sensibles como lo es *C. albicans*. Este fenómeno representa un reto para el manejo de la enfermedad^{75,76}

Estados de inmunodepresión.

Los sujetos con problemas de inmunocompetencia y con enfermedades sistémicas asociadas, tales como la diabetes, desnutrición, edad avanzada evidencian resistencias a los azoles cuando la inmunidad celular mediada por las células T helper (CD4+) activa las citoquinas salivares Th1 y Th2, que se consideran las responsables de la resistencia a la infección por Cándida.⁷⁷ Los episodios recurrentes de candidiasis han contribuido a la adquisición de resistencia secundaria, especialmente en pacientes inmunodeprimidos portadores de prótesis dental predispuestos a candidiasis^{78,79,80} La inmunodeficiencia severa (CD4<100) presenta episodios recurrentes de candidiasis.⁸¹ , teniendo mayor probabilidad de presentar resistencia a los azoles

Edad avanzada

Las deficiencias en vitaminas como la vitamina E y elementos como el Zinc en ancianos aumenta la incidencia de infecciones candidiasicas viéndose alterado el sistema inmunitario.

En adultos ancianos, las alteraciones en la inmunidad innata y adaptativa (inmunosenescencia) provocan un aumento de la susceptibilidad a diferentes infecciones como la Candidiasis subprotésica. Existe alteración en la expresión y función de los receptores tipo Toll asociados al envejecimiento. Estudios realizados por Celia Murciano Campos en Valencia 2009 en ratones ancianos demostró que la producción de TNF- α en respuesta a LPS y zimosán estaba significativamente disminuida en macrófagos de ratones ancianos en comparación con macrófagos de ratones jóvenes

La producción de IL-10 en respuesta a zimosán estaba incluso aumentada en los macrófagos de ratones ancianos

La menor producción de citocinas proinflamatorias, TNF- α (A), IL-6 (B) y IL-1 β unido a una producción similar de citocinas antiinflamatorias IL-10 en ratones ancianos, desplazaría el equilibrio Th1/Th2 hacia una respuesta protinflamatoria (Th2), lo que podría explicar, al menos en parte, la mayor susceptibilidad de los ratones ancianos a las candidiasis. Exponiéndose a candidiasis sistémicas donde la frecuencia de resistencia a los azoles se incrementa.

Diabéticos.

La diabetes mellitus es una enfermedad metabólica de los hidratos de carbono, lípidos y proteínas que se caracteriza por presencia de concentraciones elevadas de glucosa en torrente sanguíneo por encima de los niveles de normalidad. La presencia de productos glucosilados terminales en las paredes de los capilares gingivales, mucosa oral, así como el colágeno del ligamento periodontal, tejido conectivo y la matriz ósea alveolar, los niveles incrementados de lipoproteínas de baja densidad con formación de ateromas, la oxidación incrementada, función alterada de leucocitos polimorfonucleares interfieren con el metabolismo normal de los tejidos bucales y la capacidad de respuesta inmune siendo susceptibles a infecciones micóticas frecuentemente. La xerostomía frecuente en diabéticos, consecuente con la disminución del flujo salival (<5,6 – 7,8) asociada a la portación de prótesis dentales predispone al desarrollo de candidiasis. Al disminuir la saliva, característico en los diabéticos, existe menor presencia de sustancias antifúngicas en los tejidos gingivales como la lisozimas, lactoferrina, lactoperoxidas y flucoproteínas frente a la adhesión de las Cándidas. Esta situación eleva el riesgo de candidiasis subprotésica frecuente y concomitantemente aumenta la probabilidad de presentar resistencias a los antimicóticos.

Desnutrición.

Las deficiencias nutricionales son un cofactor en la génesis de la candidiasis; entre los marcadores bioquímicos para su determinación se tiene la albúmina sérica *Albúmina*. Es el parámetro bioquímico más frecuentemente utilizado en la valoración nutricional. Los valores de albúmina al ingreso tienen valor pronóstico: valores inferiores al límite normal (3,5 g/dl) se asocian con un incremento en la morbilidad y la mortalidad de los pacientes. No obstante, dichos valores son poco sensibles a los cambios agudos²⁶ del estado nutricional (por la elevada vida media de la albúmina: 20 días). La disminución en el recuento total de linfocitos (<1.500), el índice de CD3/CD4 (<50) y la ausencia en la respuesta de inmunidad celular retardada, se han relacionado con la malnutrición. En el paciente crítico, tanto los recuentos linfocitarios como los test de función inmunitaria pueden estar alterados por un gran número de situaciones clínicas o por la administración de medicamentos. Estos parámetros pueden tener valor en el seguimiento evolutivo de enfermos críticos que muestran déficit en la inmunidad al ingreso.⁸¹

Los conteos de CD4 están por debajo de las 200 células/mm³, ya que esto lleva al paciente a un estado de inmunosupresión que favorece la colonización del *Cándida* en cavidad oral por la disminución de Th1 y permanecen la Th2 salivales. La respuesta Th2 es proinflamatoria modifica el microambiente de los tejidos razón por la que algunas cepas de *Cándida* tienen a sufrir de modificaciones diploides evidenciando resistencias.

Biofilms asociados a hábitos higiénicos deficientes.

El biofilm fúngico es un conjunto de biomasa microbiana formada por distintas comunidades de microorganismos fúngicos estructurados tridimensionalmente con una corriente que fluye a través de canales para el transporte de sustratos, desechos y señales moleculares. Los biofilms fúngicos están relacionados con la susceptibilidad disminuida con los antimicóticos. Los factores que se relacionan con la adhesión y formación del biofilm son la especie de *Cándida*, la naturaleza de la superficie colonizada, presencia de prótesis, la disminución de los fluidos salivales. Las especies de *Cándida* spp son productoras de fosfolipasas, proteasas. La formación de los biofilm consiste en la adhesión (adhesinas ligadas a receptores), la colonización (progenies de levaduras restablecen la adhesión a tejidos), la coadhesión (adhesión a otros microorganismos bacteriano *S. mutans*, *S. mitis* y *Actinomyces naeslundii*), maduración (presencia de

levaduras y formas filamentosas) y la desinserción (desalojo de las microcolonias de levaduras por diferentes medios ej. Higiene). Los biofilm permiten la acumulación de *S. cerevisiae*, especialmente en personas con hábitos higiénicos deficientes. Los *Sacharomyces* transportan antibióticos y antimicóticos produciendo la salida del fármaco y reduciendo su acumulación intracelular. Los genes MDR1 y CDR1, que codifican proteínas transportadoras de antimicóticos, que pertenecen, respectivamente, a las familias MFS y ABC de transportadores de fármacos. De hecho, en *C. albicans* la función de estos transportadores es diferente en varios aspectos. Por ejemplo, aunque tanto *CDR1* como *MDR1* pueden producir resistencia a fluconazol por sobreexpresión⁸³,

Para Ramage y Col (2001), la madurez del biofilm de *C. albicans* consiste de una mezcla de levaduras y formas filamentosas embebidas dentro de un material exopolimérico que conducen a estados de candidiasis subprotésica y la desinserción de la misma puede ser favorecida por la aplicación de buenas prácticas higiénicas. La célula diploide eucariota de *Cándida* posee suficientes recursos genómicos para adaptarse a diversos medios ambientes de la cavidad bucal por lo que sufre distintas modificaciones fenotípicas y cariotípicas de translocación, la fragmentación cromosómica y tornarse aneuploide.

Estas comunidades microbianas utilizan los siguientes mecanismos para evadir la acción de los antifúngicos azólicos y polienos: se ha descrito una disminución en la difusión de la droga al incrementar la producción de β -1,3 glucanos en la pared celular, estos compuestos se asocian al secuestro de fluconazol.⁸⁴

Anemia

En los pacientes anémicos las lactoferrinas de la saliva como elemento antifúngico que impide la adhesión de las *Cándidas spp* a los tejidos se ven disminuidas por la deficiencia de Fe., la deficiencia de este mecanismo defensivo predispone a la candidiasis subprotésica, observándose frecuentemente como agentes etiológicos cepas de *Cándida* no albicans resistentes a los compuestos azólicos.

Neoplasias

La *C. glabrata* es la levadura más frecuente en procesos neoplásicos, genera proteinasas y la hidrofobicidad de su superficie celular es similar a la de *C. albicans*, lo que asegura su capacidad de adherencia a las células del huésped. alteraciones del

huésped que contribuyen al desarrollo de las infecciones por esta especie son la disminución en los niveles de IgA , una menor respuesta inflamatoria y, sobre todo, una disminución cuantitativa o cualitativa de los linfocitos T, hecho que explica la mayor frecuencia de candidiasis subprotésica en los pacientes con neoplasias.

2.1.6. HIPÓTESIS

La resistencia de *Cándida spp* a fármacos usados en el tratamiento de Candidiasis subprotésica como el fluconazol y voriconzol se asocia principalmente a factores como la edad avanzada y la especie de *Cándida spp* en adultos mayores portadores de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”.

2.2. MARCO CONTEXTUAL.

2.2.1. Contexto político, social y económico

La República de Bolivia constituye un Estado soberano e independiente, es mediterránea, dividida en tres regiones geográficas: Andina, Valles y llanos. Tiene una extensión territorial de 1.098.581 km², de la cual el 65% corresponde al llano, 19% a los valles y 16% a la meseta altiplánica.

Bolivia está **Localizada** en la parte central de Sud América, entre los meridianos 57° 25' y 69° 38' de longitud oeste de Greenwich y los paralelos 9° 40' y 22° 53' de latitud sur¹⁸

En cuanto a la **división político-administrativa**, la República de Bolivia esta conformada por 9 departamentos (Chuquisaca, Santa Cruz, La Paz, Cochabamba, Oruro, Potosí, Tarija, Beni y Pando), 112 provincias y 327 secciones municipales con sus respectivos cantones **Limites:** Al Norte y al Este con la República de Brasil, al Sur con la República Argentina, al Oeste con la República de Perú, al Sudeste con la República del Paraguay y al sudoeste con la República de Chile.

El **Departamento de Chuquisaca** fue creado el 23 de enero de 1826 durante el gobierno del Mariscal. Antonio José de Sucre⁽¹²⁾, tiene una superficie territorial de 51.524 Km., una población de 631.062 habitantes ¹⁹

La ciudad de Sucre también denominada Charcas, La Plata y Chuquisaca, se encuentra situada en la parte septentrional del Departamento de Chuquisaca, entre los 19° 3' 2" de latitud sur y los 65° 47' 25" de longitud oeste del meridiano de Greenwich. En 1552 se creó el Obispado de Charcas y en 1559 la Audiencia de Charcas con Capital Chuquisaca.

Chuquisaca tiene 10 provincias: Oropeza, Yamparaez, Tomina, Zudañez, Belisario Boeto, Azurduy, Hernando Siles, Luís Calvo, Nor Cinti y Sud Cinti. **Chuquisaca** tiene una extensión de 51.524 Km² y una densidad de 12,24 hab./Km². Del total de la población el 49,03% son hombres y el 50,97% son mujeres. La tasa anual de crecimiento alcanza al 1,71% (Urbana del 4.73% y rural del 0,25%).¹⁹

2.2.2. Contexto demográfico y estrategias de salud para los adultos mayores bolivianos.

Según datos del INE 2008 consignados en el “Proyecto poblacional del Género Nacional de Población y Vivienda 2008”, en Bolivia existe una población total de 10.027.628 habitantes. A su vez la población urbana corresponde a 5.309.288 habitantes (65.56%), siendo 305.398 mayores de 60 años que corresponde al 5,75% del total de la población urbana y de la población rural estimada 4.718.340 habitantes (33.44%), siendo mayores de 60 años 370.592 habitantes, es decir, el 6,74% del total de la población rural. En Bolivia el 6,74 % tiene más de 60 años de edad.¹⁹

La tasa de mortalidad general por todas las causas fue más alta en los hombres (1.102 por 100.000 habitantes) que en las mujeres (897). La mortalidad por enfermedades del sistema cardiovascular tuvo una frecuencia similar en ambos sexos; por neoplasias fue 1,5 veces mayor en mujeres que en hombres; por causas externas fue 2,5 veces mayor en hombres que en mujeres, y por enfermedades transmisibles fue 1,2 veces mayores en hombres que en mujeres¹⁹

En la ciudad de La Paz, Oruro y Potosí se encuentra casi la mitad de las personas mayores de 60 años y donde se concentra más densamente la población. Siendo La Paz la ciudad con mayor cantidad de sexagenarios de Bolivia correspondiente al 32%. A su vez Pando registra menor número de habitantes de la tercera edad mayores de 60 años, con poco más de 3000 habitantes que equivale al 0,46%.^{(8) (12)} La población del occidente de Bolivia tiene mayor número de ancianos con relación a la región del oriente.²⁰

Chuquisaca para el 2008 tiene una población total de 631.053 habitantes y una población mayor de 60 años de 46.367 habitantes, por tanto equivale a un 7,35% respecto al total de la población y un 6,86% respecto al total de la población mayor de 60 años. De los 22 municipios chuquisaqueños 20 de ellos presentan una elevada población de adultos de la tercera edad, según datos del INE 2008. En Bolivia la diabetes mellitus es más frecuente en mujeres que en hombres y la mayor incidencia radica entre las edades de 50 a 70 años de edad.²⁰

En Chuquisaca la esperanza de vida en el departamento de Chuquisaca es de 61 años (hombres 59 y mujeres 63 años) y la razón de mujeres en edad fértil es de 27,3 por cada 100 mujeres. Los municipios de Presto con un 116,6, Poroma con 109,8 y Tarabuco con 103,5 tienen la mortalidad más alta del departamento. La mortalidad general alcanza al 9,5 por mil habitantes.²¹

Extrategias sociales y de salud gubernamentales para personas mayores de 60 años en Bolivia.

La ***Renta dignidad*** es la prestación vitalicia que el Estado Boliviano otorga a las personas mayores de 60 años y que se traduce en el pago de 2.400 bolivianos a quienes no tienen renta de jubilación y de 1.800 bolivianos a quienes sí reciben una. Este beneficio está regulado en la Ley 3791 de la Renta Universal de Vejez (Renta Dignidad), promulgada el 28 de noviembre de 2007.^{21,22}

Los aproximadamente 260 millones de dólares anuales (sin costos de administración) necesarios para el pago de la Renta se financian con el 30% de todos los recursos del IDH asignados de las prefecturas, municipios, fondo indígena y Tesoro General de la Nación (artículo 9 de la Ley).

En Bolivia, de acuerdo con proyecciones del Instituto Nacional de Estadística, 676 mil personas mayores de 60 años recibirán la Renta Dignidad. Casi la mitad (320.815) habita tan sólo en tres departamentos: La Paz, Oruro y Potosí. Puesto en términos locales, de los 153 municipios con que cuentan esos departamentos, 134 tienen una concentración de sexagenarios mayor a la media nacional (6,74% sobre el total de la población).^{21,22}

Todo lo contrario ocurre en el departamento Pando. Ninguno de sus 15 municipios tiene una concentración de adultos mayores que rebase la media nacional; ni siquiera se acerca: con una población de 75.359 personas, la cantidad de mayores de 60 años llega sólo a 3.099, es decir, el 4,11 por ciento de la población departamental. Índices parecidos registran Santa Cruz (4,93%) y Beni (5,02%).²²

El ***Programa de Salud del adulto mayor*** consiste en la atención primaria de salud a todo adulto mayor²⁰ y que actualmente este servicio es realizado por hospitales municipales. En la ciudad de Sucre, el Hospital Santa Bárbara

2.2.3. Antecedentes del "Hogar 25 de Mayo".

Historia del "Hogar 25 de Mayo".

La Congregación "Siervas de María Ministras de los Enfermos" nace en Madrid, España el 15 de agosto de 1851 en un barrio de la periferia, en la iglesia de Chamberí. El sacerdote Don Miguel Martínez y Sanz, tuvo la inspiración de fundar una Asociación de mujeres piadosas para el cuidado de los enfermos en sus mismos domicilios, es así que va surgiendo la Congregación de las Siervas de María Ministras de los Enfermos. Con el transcurso del tiempo, viendo que la fundación no iba a tener sostén, en 1856 el Padre Miguel deja la obra y se va como misionero a Fernando Póo. Es así como Santa María Soledad Torres Acosta. Se constituye fundadora de tan maravillosa obra apostólica, siendo las pioneras con el carisma de asistencia esmerada y gratuita a los enfermos en sus domicilios, tomando la consigna evangélica "ESTUVE ENFERMO Y ME VISITASTE". A pesar de tantas dificultades, problemas, tropiezos la fe inquebrantable de Madre Soledad hace que la Congregación se convierta en árbol frondoso donde posteriormente fue creciendo y expandiéndose la Institución atravesando ultra mar, llegando a América. La Madre fundadora falleció el 11 de octubre de 1887, la Iglesia reconoció el heroísmo de sus virtudes, Madre Soledad fue beatificada por Pío XII el 5 de febrero de 1950 y canonizada por Pablo VI el 25 de enero de 1970.

El 21 de enero de 1899 llega a Sucre la primera expedición de las Hermanas "Siervas de María" para hacerse cargo del Hospital "Santa Bárbara", el matrimonio de los esposos sucrenses Don Pedro Lazúrtegui y Doña Isabel Urriolagoitia fueron quienes tramitaron la venida de las Hermanas con la Superiora General Josefa Díaz, obteniendo el consentimiento y la del Monseñor Miguel de los Santos Taborga, llevando a cabo el trámite con la Sociedad Humanitaria de San Vicente de Paúl, que tiene a su cargo en esa fecha el Hospital y el Manicomio.

Esta primera casa era un centro plurifuncional donde aparte del funcionamiento del Hospital se encontraba el Manicomio Pacheco tanto sección varones y mujeres y un local que se asignaba con el nombre de asilo de ancianos.

El "Hogar 25 de Mayo" tuvo su origen en el Hospital Santa Bárbara, en sus archivos consta que tuvo anexos con un asilo de ancianos, el número de pacientes enfermos

ancianos era muy elevado ya que los enfermos después de restablecerse no tenían un hogar dónde ir por circunstancia de abandono y extrema pobreza, alojados en una parte del pabellón de maternidad del Hospital. Los historiadores relatan que un hombre de oficio zapatero cocinaba comida en una olla todos los días para los ancianos, estos comían con sus manos en condiciones precarias, para luego descansar y quedar dormidos sobre unos cueros en el suelo húmedo. Posteriormente la Sociedad Humanitaria de San Vicente de Paúl les pasa una Subvención.

El 25 de abril de 1900 arriban a Sucre la segunda expedición compuesta por seis religiosas. En el grupo llega la Madre Alejandrina Cuevas nombrada Maestra de Novicias del Noviciado Regional Sucre.

Tanto era el número de ancianos que vivían en un solo cuarto entre hombres y mujeres, el Hospicio no podía continuar en la forma que fue recibido por las Hermanas con esa promiscuidad y un local inadecuado del que Madre Alejandrina Cuevas, Superiora del Hospital Santa Bárbara; hizo presente a la Honorable Alcaldía Municipal los cuales se interesaron y cedieron el local actual, que era un cuartel del ejército, haciéndose cargo con carácter propietario la H.A.M.(Honorable Alcaldía Municipal) bajo la custodia y administración de las Hermanas "Siervas de María Ministras de los Enfermos".



Figura N° 5 Patio Principal de "Hogar 25 de Mayo"

En febrero de 1905 tomaron posesión del nuevo edificio ubicado en calle Camargo, que tampoco era un modelo de Hogar, por las piezas pequeñas, sucias, pisos de tierra, etc. La junta de Beneficencia dispuso la erección de este establecimiento, poniendo al cuidado de las "Siervas de María" encargándose al efecto cuatro de ellas; Sor Eduvigis Imaz, Sor Gloria Machín, Sor Jesús Amezaga y Sor Trinidad Urdiminea. Grandes esfuerzos y sacrificios costó a las hermanas adaptarlo para el fin que estaba destinado, gracias a las donaciones de las familias sucrenses se pudieron ir habilitando y adaptando los espacios; y distribuirlo en sección varones y mujeres.



Figura N° 6 Imagen de la Virgen María, primer patio "Hogar 25 Mayo"

La primera Madre Superiora del "Hospicio 25 de Mayo" fue la Madre Mercedes Posada que llegó de España en la segunda expedición de las "Siervas de María" el año 1900. En un principio el Hogar fue llamado "Asilo de Mendigos", después "Hospicio de Asilados", luego "Hogar de Ancianos" y en la actualidad "Hogar 25 de Mayo". En un principio este Hogar albergaba enfermos incurables, subnormales, epilépticos, sordomudos, invidentes, saben a qué atenerse, deseosas de mantenerse en su puesto a pesar de la dificultad. El 24 de enero de 1911 Madre Dolores Serrano Superiora General del aquel entonces pide voluntarias para fortalecer las dos casas de Sucre.

Se supera esta crisis y dieciséis hermanas, jóvenes todas ellas llegan a Buenos Aires, además que otra Hermana de la Comunidad de Buenos Aires fue añadida a la expedición y así fueron ¹⁷. La Municipalidad mandó por dos veces una comisión del Municipio para rogarlas que volvieran a hacerse cargo del "Hospicio 25 de Mayo" ya que las 3 Hermanas que allí había, se bajaron al Hospital, en medio de lágrimas y sollozos de los pobres asilados. Al saber, con seguridad que la tercera expedición de las "Siervas de María" estaba en camino y que arribarían al puerto de Buenos Aires el 24 de julio de 1911 las mismas tres Hermanas volvieron a hacerse cargo del "Hospicio". El acto oficial de entrega lo hizo el señor presidente de la Municipalidad Sr. Rene Rodríguez acompañados de los miembros de la Comisión y fue firmado por la Superiora Sor. Eduvigis Imaz y el presidente el día 1 de junio de 1911.

El tercer grupo llegó a Sucre el 18 de agosto de 1911 sin novedad, saliendo a su espera Sor Eduvigis con otra hermana y el capellán a cinco leguas de Sucre. Fue una entrada muy hermosa todas las señoras de la aristocracia de Sucre como pocas veces visto fueron a recibirlas, venían las Hermanas repartidas en los coches de caballos de las señoras que se porfiaban para traer en el suyo aunque fuera una. El refuerzo fue eficaz y la congregación arraigó definitivamente en el suelo boliviano.



Figura Nº 7 Jardines del primer patio del “Hogar 25 de Mayo”

Contexto actual del Hogar “25 de Mayo”.

Actualmente el “Hogar 25 Mayo” está situado en Calle Camargo N°103, la Directora a cargo es pertenece a la congregación de María y cuentan con 8 profesionales en el área de salud compuesta por 2 médicos, 1 fisioterapeuta, 1 odontóloga y 4 enfermeras, a ellos se suma 7 manuales que prestan servicios para el cuidado de 102 adultos de la tercera edad.

Su infraestructura está dividida 4 sectores denominándose. Sector hombres alto y bajo y mujeres alto y bajo, existen 3 consultorios de atención de salud del adulto mayor conformada por fisioterapia, odontología y medicina; a ellas se integran las áreas de enfermería en cada una de los sectores regentadas por Hermanas de la Congregación de Siervas de María y de profesión enfermeras. La disposición de la infraestructura consiste en 4 patios, 3 comedores (hombres- sector bajo hombres y mujeres- sector bajo mujeres- y hombres con impedimentos en las piernas – sector alto varones-), la cocina, oficina de dirección y una portería.

Los internos que residen en el hogar ingresaron a este minoritariamente por voluntad propia, la mayoría de ellos fueron dejados o abandonados por sus familiares, el gobierno Nacional se ocupa su manutención y alimentación. Por otro lado, la ayuda recibida por voluntarios en forma de donativos externos es bien recibida por los internos y la regencia de las hermanas de la Congregación Siervas de María. Existen ancianos que proceden de las ciudades de La Paz, Oruro, Santa Cruz y frecuentemente son chuquisaqueños; sus edades están comprendidas mayoritariamente entre 60 a 90 años de edad, existiendo algunos casos de menores de 60 con patologías como Alzheimer. La mayoría de ellos tienen como lengua materna el quechua y el resto castellano.

Condiciones de Salud de los internos del “Hogar 25 Mayo”

Las condiciones generales de salud con la que ingresan los pacientes están relacionadas con su edad, son problemas de salud como hipertensión, diabetes, gastritis y úlceras, artritis reumatoides, dérmicas, oftálmicas y auditivas y algunos casos de neoplásicas. Muchos de los internos que ingresan manifiestan algún grado de desnutrición y problemas respiratorios de tipo infeccioso. Tras una valoración médica previa muchos de ellos reciben la medicación especialmente para los diabéticos e hipertensos, sin embargo, existen necesidades no cubiertas para el tratamiento de otras patologías, por el costo elevado. El área médica esta regentada por la Dra. Lourdes Martínez (Medicina General) y el Dr. Gregorio Nava (Cirujano internista) y el área de fisioterapia por el Lic. Luis Peredo.

Las condiciones de salud oral en aquellos que ingresan al Hogar no son buenas, observándose presencia de restos radiculares, caries en distintos grados, lesión periodontal, abscesos, halitosis y presencia de cálculos supra y subgingivales. Son escasos, los casos de ancianos que ingresaron al hogar portando prótesis total removible. Los tratamientos que reciben en el consultorio dental incluyen mayoritariamente exodoncias, tartraje de cálculos gingivales, obturaciones de primer y segundo grado, instalación de prótesis removible total y parcial, tratamientos de profilaxis y tratamiento farmacológico antibiótico, analgésico, antimicótico y antiviral. El tratamiento odontológico en pacientes geriátricos es realizado por un odontólogo, cuyo profesionalismo es relevante, admirable y de sensibilidad.



Figura N° 8 Consultorio dental “Hogar 25 Mayo”

CAPÍTULO III

CAPITULO III

3. MARCO METODOLOGICO

3.1. ENFOQUE DE LA INVESTIGACION.

La investigación tuvo un **enfoque cuantitativo** que permitió determinar la prevalencia de resistencia de la *Cándida spp* a los antimicóticos azólicos, aisladas de tejidos gingivales de los adultos mayores que residen en el “Hogar 25 de Mayo” de la ciudad de Sucre en asociación a factores de riesgo.

3.2. TIPO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACION.

Se realizó un estudio de **tipo observacional, analítico y transversal**. **Observacional** porque se determinó mediante métodos de susceptibilidad la resistencia de diferentes especies de *Cándida spp* frente a fluconazol y voriconazol. Por otro lado se observó los hábitos higiénicos aplicados a las prótesis para eliminar las biofilm de las superficies acrílicas, el grado de candidiasis, el grado de desnutrición, el estado de glicemia en los diabéticos y presencia de neoplasias. **Analítica** porque permitió realizar la asociación causal entre la resistencia de la *Cándida spp* y los factores de riesgo dependientes del hospedero como los hábitos higiénicos, presencia de diabetes, grado de desnutrición, neoplasias y anemia o dependientes al microorganismo especie y la resistencia a los antimicóticos fluconazol y voriconazol. De tipo **transversal** porque la recolección de la información de las variables se realizó en forma simultánea en un momento en el tiempo o periodo determinado.

3.2. POBLACION Y MUESTRA.

El universo estuvo constituido por adultos de la tercera edad residentes del “Hogar 25 de Mayo”, portadores de prótesis dental, lo cual correspondió a un total de la población de 52.

No se realizó muestreo probabilístico y según los criterios de exclusión, la muestra obtenida por conveniencia correspondió a 49 adultos mayores portadores de prótesis dental

3.3. VARIABLES DE ESTUDIO.

3.3.1. Variables dependientes.

- Resistencia a fluconazol
- Resistencia a voriconazol

3.3.2. Variables independientes.

- Edad
- Grado de candidiasis subprotésica
- Hábitos higiénicos
- Grado de desnutrición
- Presencia de anemia
- Presencia de diabetes
- Presencia de neoplasias
- Especie de *Cándida spp*
- *Uso previo de antimicrobianos**

* Con respecto a el variable uso previo de antimicrobianos, por las características de la población estudiada, no se pudo obtener datos suficientes y confiables para ser incluidos en el estudio.

3.3.3. Conceptualización, operacionalización, categorización e instrumentalización.

OBJETIVO ESPECIFICO	VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE VARIABLES	CATEGORÍA	INSTRUMENTAL
Determinar la presencia y especie de <i>Cándida spp.</i> en adultos de la tercera edad portadores de prótesis que residen en el "Hogar 25 de Mayo"	Presencia de <i>Cándida spp</i>	Comprobación de la colonización de <i>Cándida spp</i> en en tejido cavidad bucal mediante pruebas microbiológicas.	Verificación de la colonización de <i>Cándida spp</i> en tejidos gingivales que soportan la prótesis dental removible en adultos mayores a través del aislamiento por cultivo	Independiente e cualitativa nominal	<i>Presencia de levaduras:</i> Cultivo negativo para <i>Cándida spp</i> <i>Ausencia de levaduras:</i> Cultivo positivo para <i>Cándida spp</i>	Ficha odontológica
	Especie de <i>Cándida spp</i>	Categorización del género por alguna característica taxonómica	Según taxonomía para el género <i>Cándida spp.</i>	Independiente e cualitativa nominal	<i>C. albicans</i> <i>C. krusei,</i> <i>C. tropicalis,</i> <i>C. parasilopsis</i> <i>C. glabrata</i>	

Determinar la prevalencia y grado de candidiasis subprotésica en adultos de la tercera edad portadores de prótesis que residen en el "Hogar 25 de Mayo".	Presencia de <i>Candidiasis</i> subprotésica	Infección tejido gingival donde se asienta la prótesis dental, producida por el género <i>Cándida</i>	Según criterios clínicos y laboratoriales.	Variable Independiente e cualitativa nominal	Presente Ausente	Ficha odontológica
		Estados clínicos progresivos de la candidiasis subprotésica por colonización de <i>Cándidas</i> en tejidos gingivales.	Según criterios de la clínica y laboratoriales	Independiente e cualitativa ordinal	<i>Grado I:</i> punteado rojizo sobre la mucosa palatina. <i>Grado II:</i> hiperemia de la mucosa con alisamiento y atrofia de la misma. <i>Grado III:</i> hiperemia de la mucosa con aspecto nodular o granular <i>Colonizados:</i> Presencia de levaduras tipo <i>Cándida</i> y <i>Ausencia de candidiasis</i> subprotésica.	
Determinar la resistencia de cepas <i>Cándida spp.</i> a fluconazol y voriconazol aisladas de adultos de la tercera edad portadores de prótesis que residen en el "Hogar 25 de Mayo".	Resistencia a fluconazol	Es una mutación genética de origen cromosómico y extracromosómico de la <i>Candida spp</i> a fluconazol	En relación a los parámetros estándar de la CLSI documento M44-P, M27-A3, M38-A para especies <i>Cándida spp</i>	Dependiente cualitativa nominal	Sensible Resistente	Ficha odontológica
	Resistencia a voriconazol	Es una mutación genética de origen cromosómico y extra cromosómico de la <i>Candida spp</i> a voriconazol	En relación a los parámetros estándar de la CLSI documento M44-P, M27-A3, M38-A para especies <i>Cándida spp</i>	Variable Dependiente Cualitativa nominal	<i>Sensible</i> <i>Resistente</i>	
Asociar la resistencia de <i>Cándida spp.</i> a fluconazol y voriconazol con: la especie de <i>Cándida spp.</i> , edad, hábitos higiénicos, grado de candidiasis, presencia de anemia, diabetes, neoplasias, grado de desnutrición., edad portadores de prótesis dental	Edad	Tiempo de existencia desde el nacimiento	Según grupos quinquenales	Independiente e cuantitativa	Menores 70 años 71 – 75 años 74 - 80 años Mayor a 80 años	Ficha odontológica
	Grado de candidiasis	Estados de estomatitis subprotésica por colonización de <i>Cándidas</i> en tejidos gingivales.	Según criterios de la clínica y presencia de pseudomicelios en frotis microscópicos	Independiente e cualitativa ordinal	<i>Grado I:</i> punteado rojizo sobre la mucosa palatina. <i>Grado II:</i> hiperemia de la mucosa con alisamiento y atrofia de la misma. <i>Grado III:</i> hiperemia de la mucosa con aspecto nodular o granular <i>Ausencia de candidiasis protésica.</i>	
	Hábitos higiénicos	Procedimientos realizados para evitar situaciones de riesgo para la adquisición de enfermedades.	Procedimientos destinados a remover los biofilm adheridos a las superficies protésicas que están en contacto con los tejidos gingivales de los adultos mayores.	Independiente e cualitativa ordinal	<i>Buena</i> (0) crecimiento escaso 0 a 20 colonias <i>Regular intermedio</i> crecimiento-20 a 50 colonias <i>Mala:</i> crecimiento intensivo-50 a 100 colonias <i>Pésima</i> abundante (confluyente) crecimiento de más de 100 colonias	
	Grado de desnutrición	Estado de deficiencia nutricional del organismo	Según especificaciones de pruebas bioquímicas (albumina)	Independiente e cualitativa ordinal	<i>Normal:</i> > 35mg/dl <i>Leve:</i> 3 – 3,5 mg/dl <i>Moderada:</i> 2,6 – 3 mg/dl <i>Severa:</i> <2,5 mg/dl	

	Presencia de diabetes	Enfermedad metabólica de los hidratos de carbono evidenciada por el aumento de los valores glucemia en ayunas	Enfermedad metabólica confirmada según estudios médicos y de laboratorio	Independiente e cualitativa nominal	Presente Ausente	
	Presencia de neoplasias	Enfermedad neoplásica invasiva con riesgo de la vitalidad del paciente.	Enfermedad neoplásica confirmada según estudios médicos	Independiente e cualitativa nominal	Presente Ausente	

3.4. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN.

3.4.1. Criterios de inclusión.

- Adultos de la tercera edad portadores de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”.
- Adultos de la tercera edad portadores de prótesis dental que recibieron la última dosis de tratamiento antibacteriano o antimicótico 48 horas antes.

3.4.2. Criterios de exclusión.

- Adultos de la tercera edad portadores de prótesis dental con prótesis dentales instaladas recientemente.
- Adultos de la tercera edad que dejaron de usar de forma permanente la prótesis dental.
- Adultos de la tercera edad portadores de prótesis dental que no colaboren voluntariamente.
- Adultos de la tercera edad que presenten tejidos gingivales no colonizados por levaduras de *Cándida spp.*

3.5. PROCEDIMIENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

3.5.1. Instrumento.

El instrumento de recolección de datos fue la *Ficha Odontológica* en la cual se registró los datos del paciente, los resultados de laboratorio referidos a la tipificación de la especie *Cándida spp.* y los resultados obtenidos en las pruebas de susceptibilidad de las cepas aisladas frente al fluconazol e voriconazol, (Ver Anexo N° 2).

3.5.2. Procedimientos y técnicas para la recolección de la información.

3.5.2.1. Examen clínico de tejidos gingivales, toma de muestra y pruebas de susceptibilidad para *Cándida spp.*

Se realizó un **Examen Clínico** exploratorio de los tejidos gingivales de la cavidad bucal de los pacientes adultos de la tercera edad que usan prótesis removibles, para detectar la sintomatología compatible con candidiasis subprotésica (Fig. N° 9), grado de candidiasis subprotésica y hábitos higiénicos aplicados a los aparatos protésicos. Así como otros datos generales edad y sexo.



Figura N° 9 Candidiasis subprotésica en reborde gingival en arcada inferior

Se procedió a la **toma de muestra por una parte del tejido y por otra de la película adherida a la superficie protésica acrílica (biofilm)**, en contacto con los tejidos gingivales, empleando 2 hisopos estériles (Fig. N° 10), uno de ellos se empleó para realizar la siembra en agar Sabouraud y el otro para realizar un frotis sobre el portaobjetos para observaciones microscópicas. Esto se realizó en el consultorio de Odontológico en el “Hogar 25 de Mayo”. Las siembras realizadas y los frotis fueron remitidos inmediatamente para su procesamiento en el Laboratorio Santa Rosa, lugar donde se procesaron los cultivos. Posteriormente se hizo el recuento de colonias para determinar la carga levaduriforme para relacionar con los hábitos higiénicos aplicados a la prótesis dental, asignándose los siguientes valores: Buena (0) crecimiento escaso 0 a 20 UFC, Regular intermedio crecimiento-20 a 50 UFC Mala: crecimiento intensivo-50 a 100 UFC. Pésima abundante (confluente) crecimiento de más de 100 UFC.



Figura N° 10 Obtención de placa adherida a la prótesis

Se efectuó un **examen microscópico** de las muestras tomadas empleando la tinción de Gram, destinada a la observación de pseudomicelios y presencia de leucocitos en las muestras obtenidas.

El **Cultivo e identificación microbiológica**, consistió en incubar las muestras previamente obtenidas en condiciones aeróbicas a 22°C durante 48 hrs. Al cabo de este tiempo las colonias blancas, convexas, cremosas o secas características macroscópicas de la *Cándida* (Fig. N° 11), se resembraron en el medio CHROMagar *Cándida* e incubaron a 37°C durante 48 horas. y según la característica de color de la colonia se identificó a la especie.



Figura N° 11 Cultivo de placa bacteriana adherida en superficies protéticas. En agar Sabouraud, para *Cándida albicans*. Fuente propia

El medio CHROMagar *Cándida* (CHROMagar) fue descrito por Odds y Bernaerts en 1994 para identificar las especies clínicamente importantes del género *Cándida*. CHROMagar *Cándida* permite diferenciar *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, y *C. glabrata* en función de los colores que desarrollan en este medio. Las colonias de *C. albicans* son lisas y de color verde esmeralda, a diferencia de *C. dubliniensis* que desarrolla un color verde oscuro y que, además, es incapaz de crecer a 45 °C. *C. tropicalis* produce colonias azul oscuro con un halo púrpura-marrón en el agar que la rodea. *C. krusei* forma colonias rugosas con el centro rosado y el borde blanco. *C. glabrata* manifiesta un color violeta morado (Fig. N° 12). Las demás especies desarrollan colores y tonalidades diversas que no permiten su identificación por este medio.

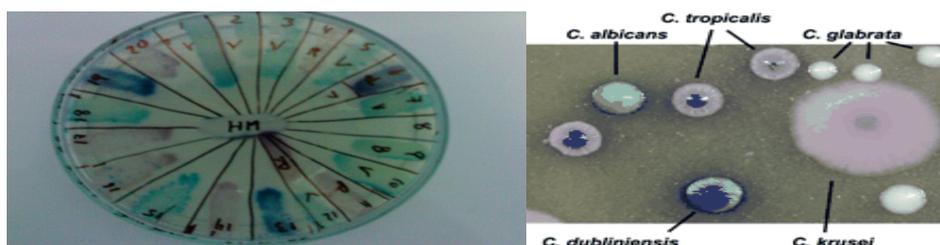


Figura N° 12 Observación macroscópica del medio Cromagar

Para la confirmación de la especie *Cándida albicans* se realizó la Prueba del tubo germinativo, para lo cual se llevó una colonia en 500ul de suero bovino e incubara en condiciones aeróbicas durante no más de 3 horas a 37 grados C°. Al cabo de este tiempo, la presencia de tubos germinativos marca la positividad para *Cándida albicans*. (Fig. N° 13)

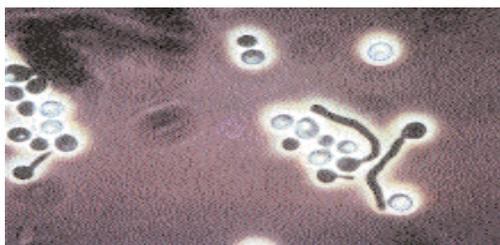


Figura N° 13 Observación microscópica de los tubos germinativos característicos de *Cándida albicans*.

Para las colonias de color rosa malva de aspecto liso se procedió a la siembra en el agar leche con tween 80 en microcultivos a 37°C para la observación de pseudomicelios y clamidosporas, para descartar a las *C. glabrata* que carecen de pseudomicelios y clamidosporas.

Microcultivo en agar leche.

Se preparó un sistema de microcultivo estéril en el interior de una caja Petri en cuya base se incluyó papel filtro, 2 portaobjetos y un tercero en posición perpendicular a los primeros. Sobre el tercer portaobjetos se depositó el agar leche. Se tomó con un asa en espátula una colonia de color rosa malva. Se inoculó haciendo una estría profunda en el medio de cultivo agar leche, luego se cubrió con un cubre objeto. Se incubó a 27°C durante 24 a 48 horas.

Se observó al microscopio con seco débil a las 24 horas en la zona de siembra para identificar la ausencia de pseudomicelios característico de la *C. glabrata*.

Asimilación de carbohidratos

Aquellas colonias rosadas de aspecto liso en el cromagar y formadoras de pseudomicelios fueron sometidas a las pruebas bioquímicas y enzimáticas de la galería comercial ELICROM para identificar la especie de la *Cándida*.

Para ello se aislaron las colonias en agar Sabouraud después de 48 horas de incubación a 37°C. Se tomaron algunas colonias para realizar una suspensión de la levadura en una ampolla. La turbidez de la suspensión fue igual al patrón 5 de Mc Farland. Se abrió una ampolla y se transfirió unos 100 ul de la suspensión precedente a cada cubeta y se procedió a incubar a 30°C por 24 a 48 horas. La interpretación se realizó según especificaciones del fabricante. Las otras especies de *Cándida de colonias* rosadas lisas fueron diagnosticadas empleando el microcultivo agar leche según para verificar la ausencia de pseudomicelios.

Las **Pruebas de Susceptibilidad** antifúngica (**Fungigrama**) se realizaron sobre cepas del género *Cándida* previamente identificadas a nivel especies, empleando el método de difusión agar, según normas del CLSI (*Clinical and Laboratory Standards Institute*). Para ello se empleó Mueller-Hinton con el agregado de 2% de glucosa y azul de metileno a razón de 0,5 µg /ml.

Para evaluar la sensibilidad in vitro de las levaduras se realizó un cultivo de 24 h a 35°C en agar Sabouraud, empleando las cepas previamente identificadas.

A partir del cultivo preparó un inóculo de turbidez 0,5 Mc Farland en solución 0,15 M de Cloruro de sodio estéril (solución salina 0,85%) (Equivale a 1-5 x 10⁶ UFC/ml).

Se embebió un hisopo estéril con el inóculo y esparció sobre la superficie de la placa de Petri en tres direcciones (Fig. N° 14). Las placas inoculadas fueron llevadas a 36 ± 2°C durante 10 - 15 minutos. Posteriormente, se dispuso los discos de Fluconazol y Voriconazol por placa con la ayuda de una pinza estéril. Se incubó la placa inoculada en la estufa de incubación por 24 a 48 horas para *C. parapsilosis* a 36 ± 2°C.



Figura N° 14 Procesamiento del Fungigrama empleando los discos de fluconazol y voriconazol.

Se realizó la medición del halo de inhibición en mm con una regla. No se deben tener en cuenta las colonias de pequeño o mediano tamaño que puedan aparecer dentro de la zona de inhibición.

Para la **interpretación de los resultados**, los puntos de corte fueron establecidos por recta de regresión construida con los datos obtenidos a partir de la determinación de la Concentración Inhibitoria Mínima (CIM) en medio líquido y las mediciones de halos de inhibición por el método de difusión con discos, y son los siguientes: Las cepas se registraron como sensibles (S) cuando los halos de inhibición correspondieron a $>19\text{mm}$, sensibles dosis-dependientes (S-DD) entre 15-18 y resistentes (R) $< 14\text{ mm}$ según valores de referencia de la CLSI. (Fig. N° 15) Para el voriconazol sensibles (S) cuando los halos de inhibición correspondieron a $>17\text{ mm}$, sensibles dosis-dependientes (S-DD) entre 14-16 y resistentes (R) $< 13\text{ mm}$.



Figura N° 15 Valoración del perfil de susceptibilidad del fluconazol



Figura N° 16 Efecto del crecimiento irregular de la *Cándida* spp en el interior del halo de inhibición.

Sin embargo aquellas cepas de *Cándida* spp que mostraron sensibilidad disminuida al compuesto azólico, fueron remitidas a un centro especializado para ser testeadas por pruebas de susceptibilidad como la Concentración Inhibitoria Mínima para determinar su sensibilidad o resistencia.

3.5.2.2 Determinaciones bioquímicas sanguíneas.

Para determinar el estado nutricional y el estado de glicemia del paciente se realizaron determinaciones bioquímicas de albuminemia.

Albuminemia. Es una proteína de síntesis hepática que transporta en suero multitud de metabolitos. Su vida media es larga 20 días. Existe un gran pool corporal 4- 5 g/kg, que contribuye a mantener la presión osmótica del plasma. La disminución de la concentración plasmática refleja la desnutrición de larga duración en el paciente. Tiene un alto valor predictivo positivo de complicaciones por desnutrición y aumento de la estancia hospitalaria. Alta especificidad 91% para estancias hospitalarias prolongadas. Los valores de referencia normal > 35 mg/dl, leve >3 - 3,5 mg/dl, moderado 3- 2,7mg/dl. y severa <2,5mg/dl.

Glicemia en ayunas. Se determinó, en los adultos mayores portadores de prótesis dental, la glicemia en ayunas para detectar valores de referencia mayores a los normales, para pesquisar posibles diabéticos no diagnosticados. En los adultos con diagnóstico confirmado para diabetes se pudo percibir valores elevados de la glicemia a pesar de recibir tratamiento farmacológico.

La presencia de **neoplasia** fue obtenida de las fichas clínicas del servicio Médico del Hogar 25 de Mayo.

3.7. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS

Los resultados fueron analizados mediante el programa informático SPSS y EPIDAT 3.0 para análisis estadístico de datos tabulados.

Se recurrió al contraste de hipótesis para conocer la relación estadística entre la resistencia de *Cándida spp* a fluconazol y voriconazol aisladas de los adultos de la tercera edad del “Hogar 25 de Mayo” y los factores de riesgo asociados a la presencia de resistencia.

Ho : No existe relación estadística entre las variables de estudio.

Ha : Existe relación estadística entre las variables de estudio.

Se consideró el error tipo α para el cual el valor de $p < 0,05$ para que la relación de variable sea estadísticamente significativa.

Para $p > 0,05$ se aceptó la hipótesis nula y se rechazó la alterna, por el contrario para $p < 0,05$ se rechazó la hipótesis nula y se aceptó la alterna.

3.8. DELIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

El presente estudio ha sido realizado en el “Hogar 25 de Mayo” de la ciudad de Sucre y Laboratorio de Microbiología Santa Rosa, la información estadística correspondió de julio a diciembre de la gestión 2012, el alcance científico establecido en los objetivos, considera la relación estadística existente entre la resistencia del fluconazol y voriconazol y factores asociados a la presencia de resistencia de *Cándida spp* a compuestos azólicos de los resultados.

CAPÍTULO IV

CAPÍTULO IV

4. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS DESCRIPTIVOS Y ANALÍTICOS

4.1. PRESENTACIÓN DE RESULTADOS DESCRIPTIVOS.

Corresponden a resultados que permiten describir a las variables independientes observadas en los adultos portadores de prótesis dental removible, que residen en el “Hogar 25 de Mayo”

Tabla N° 1 Distribución de personas de la tercera edad portadores de prótesis dentales removibles que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según sexo. Sucre 2012

Sexo	Frecuencia	Porcentaje
Masculino	9	17,3%
Femenino	43	82,7%
Total	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro de Fichas Cínicas, 2012

Gráfico N° 1 Distribución de *adultos de la tercera edad portadores de prótesis dental removible* que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según sexo Sucre 2012



De 52 adultos de la tercera edad portadores de prótesis dentales que participaron en el estudio, el 82,7% son mujeres y en el 17,3% son varones. (Tabla y Gráfico N°1)

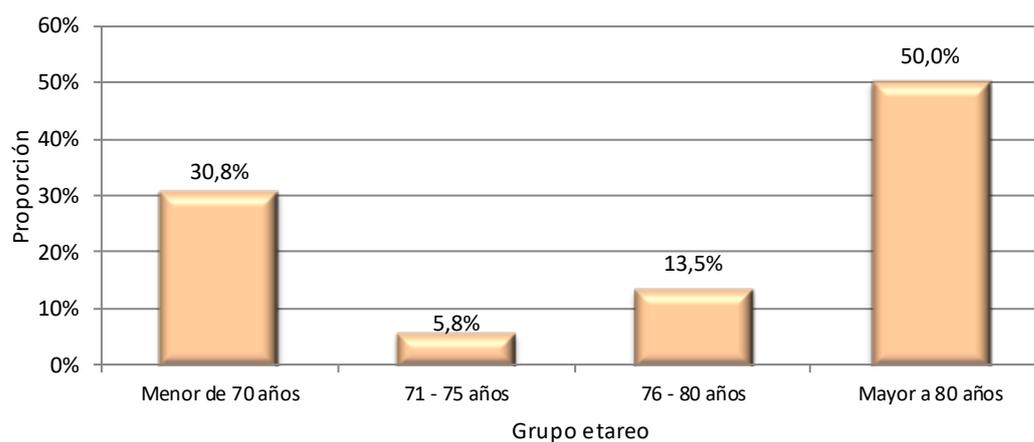
Tabla N° 2 Distribución de adultos de la tercera edad portadores de prótesis dental removible que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según grupo etario.

Sucre 2012

Grupo etareo	Frecuencia	Porcentaje
Menor de 70 años	16	30,8%
71 - 75 años	3	5,8%
76 - 80 años	7	13,5%
Mayor a 80 años	26	50,0%
Total	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos obtenido de Fichas Clínicas, 2012

Gráfico N° 2 Distribución de personas de la tercera edad portadores de prótesis dental removible que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según grupo etario, Sucre 2012



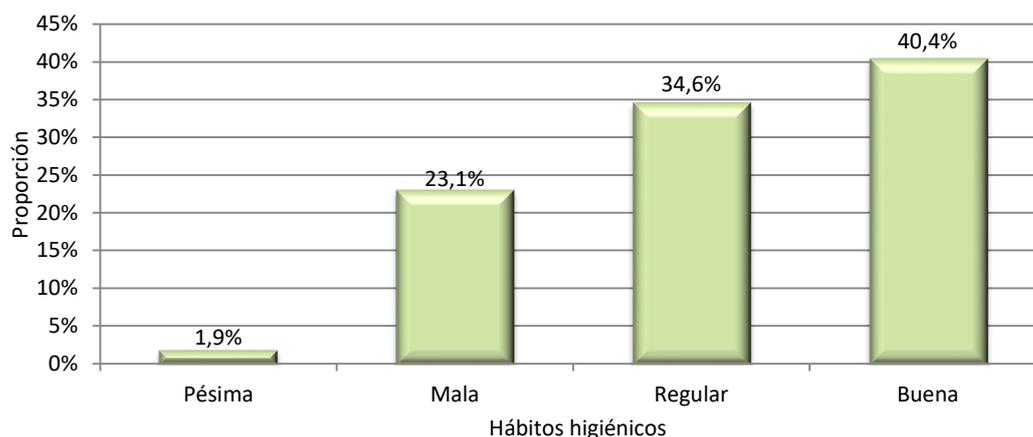
De 52 adultos mayores portadores de prótesis dentales removibles, 50,0% correspondió a mayores de 80 años, 30,8% a menores de 70 años de edad, seguido de 13,5% para aquellos estimados entre 76-80 años y el 5,8% está comprendido entre los 71 a 75 años de edad. (Tabla y Gráfico N°2).

Tabla N° 3 Frecuencia de prácticas de hábitos higiénicos aplicados en prótesis removibles de personas de la tercera edad. “Hogar 25 de Mayo”, Sucre 2012

Hábitos higiénicos	Frecuencia	Porcentaje
Pésima	1	1,9%
Mala	12	23,1%
Regular	18	34,6%
Buena	21	40,4%
Total	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa y Ficha clínica, 2012

Gráfico N° 3 Frecuencia de prácticas de hábitos higiénicos aplicados en prótesis removibles de personas de la tercera edad. “Hogar 25 de Mayo”, Sucre 2012



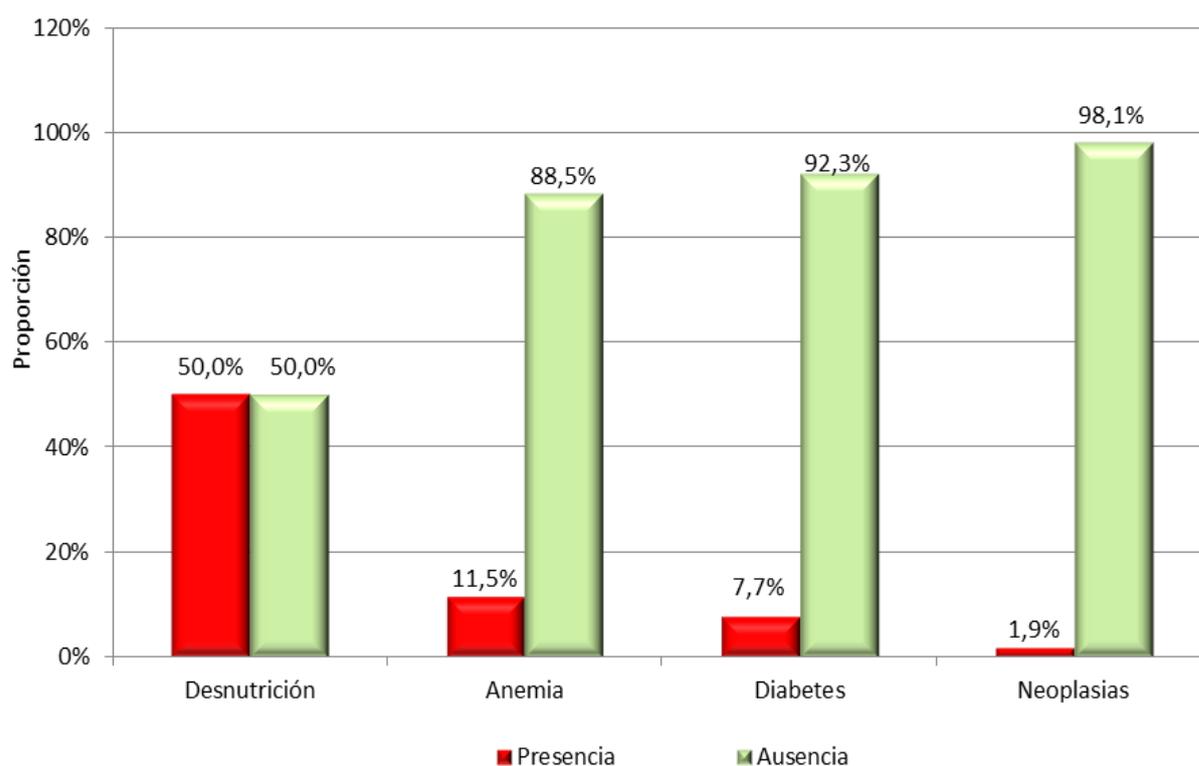
Según las prácticas de hábitos higiénicos aplicadas a las prótesis dentales el 40,4% de las personas de la tercera edad tiene una práctica buena, 34,6% regular, 23,1% es mala y 1,9% pésima. (Tabla y Gráfico N°3)

Tabla N° 4 Distribución de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de anemia, diabetes, desnutrición y neoplasias Sucre 2012

Descripción	Desnutrición		Anemia		Diabetes		Neoplasias	
	N°	%	N°	%	N°	%	N°	%
Presencia	26	50,0%	6	11,5%	4	7,7%	1	1,9%
Ausencia	26	50,0%	46	88,5%	48	92,3%	51	98,1%
Total	52	100,0%	52	100,0%	52	100,0%	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio santa Rosa y Ficha Clínica, 2012

Gráfico N° 4 Distribución de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de anemia, diabetes, desnutrición y neoplasias Sucre 2012



De 52 adultos mayores portadores de prótesis dentales removibles 50,0% presentaron *desnutrición*, 11,5% presentó *anemia*, diabetes 7,7% 1,9 neoplasias. (Tabla y Gráfico N°4)

Tabla N° 5 Distribución de personas de la tercera edad que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de levaduras en tejidos gingivales que soportan la prótesis dental removible Sucre 2012

Presencia de levaduras	Frecuencia	Porcentaje
Presencia de levaduras	49	94,2%
Ausencia levaduras	3	5,8%
Total	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012

Gráfico N° 5 Distribución de personas de la tercera edad que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de levaduras en tejidos gingivales que soportan la prótesis dental removible Sucre 2012



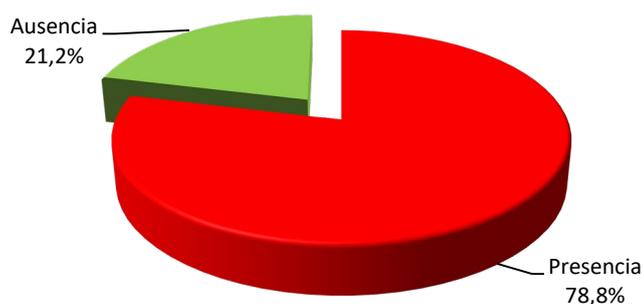
De 52 adultos mayores portadores de prótesis dentales removibles 94,4% presentaron *levaduras en los tejidos gingivales* y ausencia 5,8%, las cuales fueron aisladas mediante cultivo. (Tabla y Gráfico N°5)

Tabla N° 6 Distribución de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de candidiasis subprotésica - Sucre 2012

Candidiasis subprotésica	Frecuencia	Porcentaje
Presencia	41	78,8%
Ausencia	11	21,2%
Total	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa y Ficha Clínica, 2012

Gráfico N° 6 Distribución de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de candidiasis subprotésica Sucre 2012



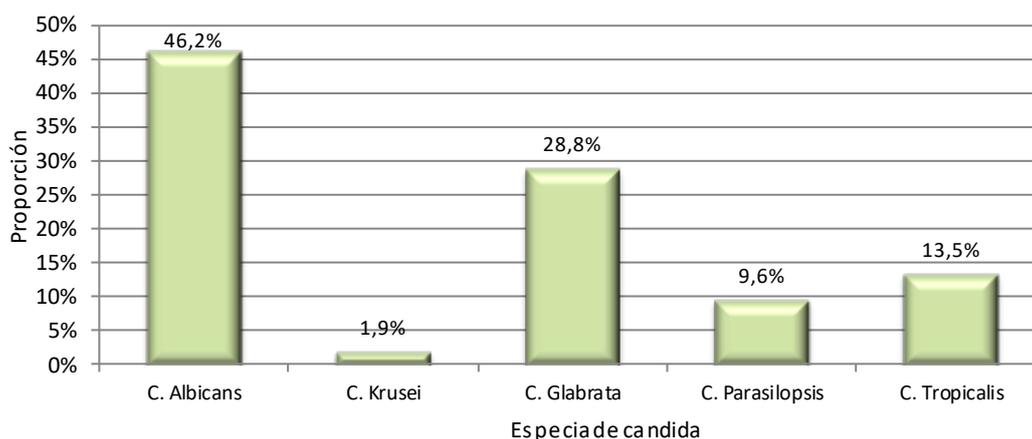
De 52 adultos mayores portadores de prótesis dentales removibles 78,8% presentaron *candidiasis* subprotésica y ausencia de *candidiasis* subprotésica 21,2%. (Tabla y Gráfico N°6)

Tabla N° 7 Frecuencia de especies de *Cándida* aisladas de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental. “Hogar 25 de Mayo”, Sucre 2012

Especie de <i>Cándida</i> spp	Frecuencia	%
<i>C. albicans</i>	24	46,2%
<i>C. krusei</i>	1	1,9%
<i>C. glabrata</i>	15	28,8%
<i>C. parasilopsis</i>	5	9,6%
<i>C. tropicalis</i>	7	13,5%
Total	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa y Ficha Clínica, 2012

Gráfico N° 7 Frecuencia de especies de *Cándidas* aisladas de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental. “Hogar 25 de Mayo”, Sucre 2012



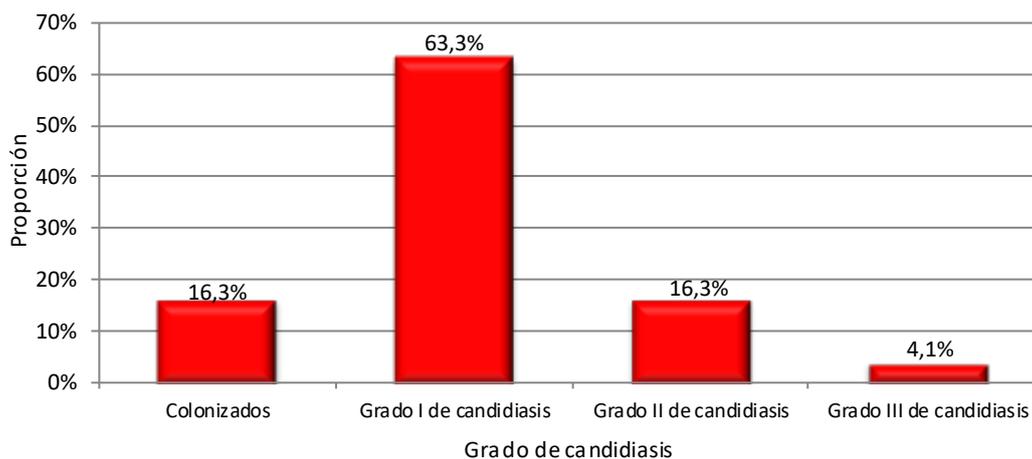
De 49 adultos mayores portadores de prótesis dentales removibles con presencia de levadura en sus tejidos gingivales se aislaron 52 cepas de *Cándida* spp., de las cuales 46,2% fueron *C. albicans*, 28,8% *C. glabrata*, 13,5% *C. tropicalis* y 1,9% *krusei*. (Tabla y Gráfico N°7)

Tabla N° 8 Distribución de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según grado de candidiasis subprotésica - Sucre 2012

Grado de candidiasis subprotésica	Frecuencia	Porcentaje
Colonizados	8	16,3%
Grado I de candidiasis	31	63,3%
Grado II de candidiasis	8	16,3%
Grado III de candidiasis	2	4,1%
Total	49	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012

Gráfico N° 8 Distribución de personas de la tercera edad portadoras de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, según grado de candidiasis Sucre 2012



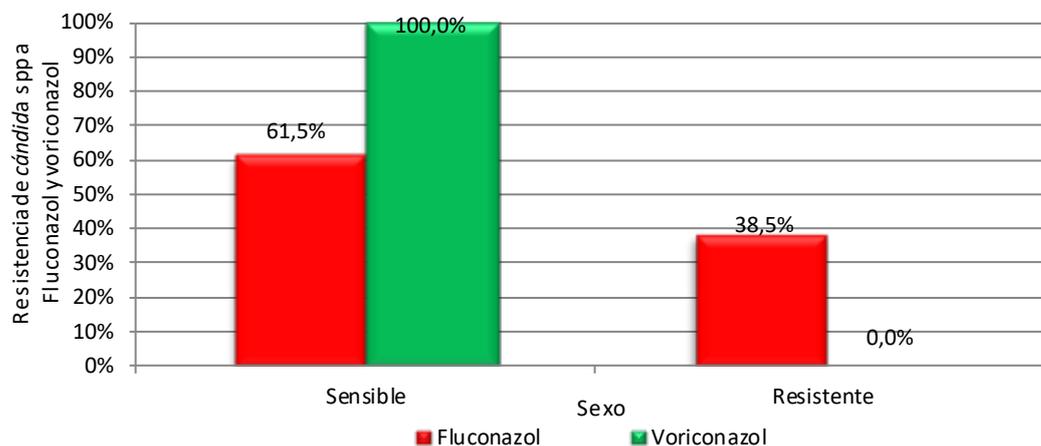
De 49 adultos portadores de prótesis dental con presencia de levaduras en sus tejidos gingivales se observó un porcentaje de colonizados 16,3%. El porcentaje de candidiasis subprotésica grado I fue de 63,3%, grado II 16,3 % y grado III 4,1 %.(Tabla y Gráfico N°8)

Tabla N° 9 Resistencia de *Cándida spp* a fluconazol y voriconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, Sucre 2012

Perfil de resistencia	Antimicótico				Total	%
	Fluconazol		Voriconazol			
	Nº	%	Nº	%		
Sensible	32	61,5%	52	100,0%	84	80,8%
Resistente	20	38,5%	0	0,0%	20	19,2%
Total	52	100,0%	52	100,0%	104	100,0%

Fuente: Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012
Resultados obtenidos posterior al testeo por CIM para comparar la distribución de la resistencia de *Candida spp*.

Gráfico N° 9 Resistencia de *Cándida spp* a fluconazol y voriconazol aisladas de de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”. Sucre 2012



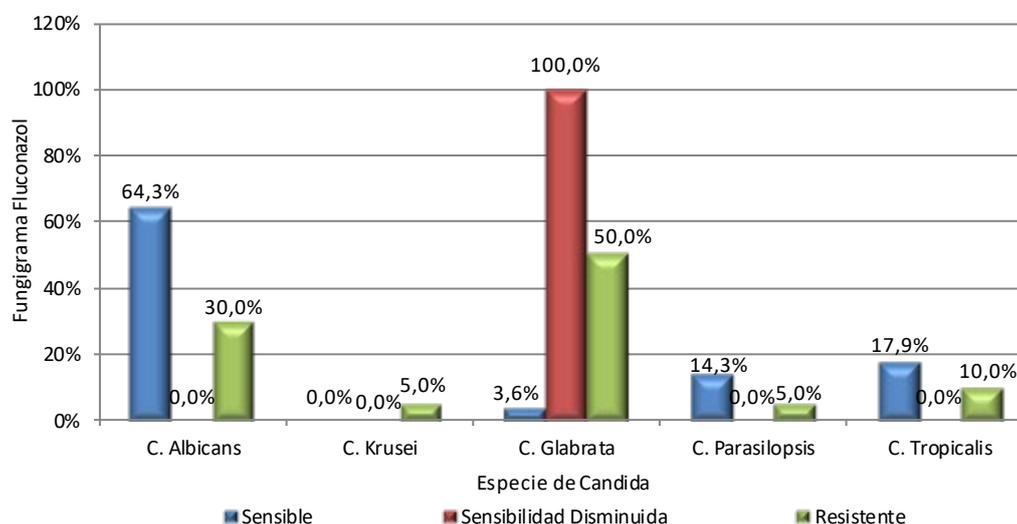
El estudio de susceptibilidad antimicótica evidenció que el 38,5% de las *Cándida spp* son resistentes al fluconazol y no se observó resistencia la Voriconazol, siendo el 100% de ellas sensible al voriconazol (Tabla y Gráfico N°9)

Tabla N° 10 Resultados obtenidos por Pruebas de Susceptibilidad –Fungigrama- de *Cándida spp* a fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según especie Sucre 2012

Especie <i>Cándida spp</i>	Fungigrama Fluconazol						Total
	Sensible		Sensibilidad Disminuida		Resistente		
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
<i>C. albicans</i>	18	64,3%	0	0,0%	6	30,0%	24
<i>C. krusei</i>	0	0,0%	0	0,0%	1	5,0%	1
<i>C. glabrata</i>	1	3,6%	4	100,0%	10	50,0%	15
<i>C. parasilopsis</i>	4	14,3%	0	0,0%	1	5,0%	5
<i>C. tropicalis</i>	5	17,9%	0	0,0%	2	10,0%	7
Total	28	100,0%	4	100,0%	20	100,0%	52

Fuente: Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012
Las cepas de *Cándida glabrata* testeadas por FUNGIGRAMA con SDD fueron analizadas por la Concentración Inhibitoria Mínima verificándose su sensibilidad

Gráfico N° 10 Resultados obtenidos mediante pruebas de Susceptibilidad – Fungigrama- de *Cándida spp* a fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según especie Sucre 2012



Se aislaron 52 cepas de 49 adultos mayores portadores de prótesis dental con presencia de levaduras, de las cuales 28 eran Sensibles, 4 con Sensibilidad Disminuida y 20 Resistentes a fluconazol. La *Cándida glabrata* alcanzó un 50% de resistencia al fluconazol. (Tabla y Gráfico N°10)

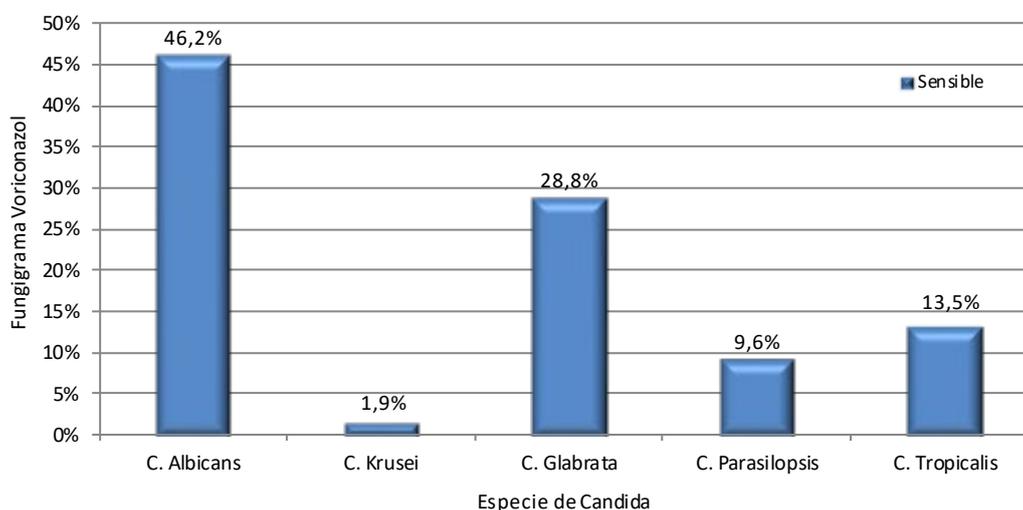
Tabla N° 11 Resultados de las pruebas de Susceptibilidad Fungigrama de *Cándida spp* a voriconazol aisladas de de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según especie de *Cándida spp*. Sucre 2012

Especie <i>Cándida spp</i>	Fungigrama Voriconazol						Total
	Sensible		Sensibilidad Disminuida		Resistente		
	Nº	%	Nº	%	Nº	%	
<i>C. albicans</i>	24	46,2%	0	0%	0	0%	24
<i>C. krusei</i>	1	1,9%	0	0%	0	0%	1
<i>C. glabrata</i>	15	28,8%	0	0%	0	0%	15
<i>C. parasilopsis</i>	5	9,6%	0	0%	0	0%	5
<i>C. tropicalis</i>	7	13,5%	0	0%	0	0%	7
Total	52	100,0%	0	0%	0	0%	52

Fuente: Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012

Todas las cepas testeadas por FUNGIGRAMA mostraron sensibilidad razón por la cual no se realizó la Concentración Inhibitoria Mínima .

Gráfico N° 11 Resultados de las pruebas de susceptibilidad Fungigrama de *Cándida spp* a voriconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según especie de *Cándida spp*. Sucre 2012



Se aislaron 52 cepas de 49 adultos mayores con presencia de levaduras portadores de prótesis dental, siendo el 100% de cepas Sensibles a voriconazol, dentro de las cuales se encontraron *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parasilopsis* y *C. krusei*. (Tabla y Gráfico N°11)

4.2. RESULTADOS DE DOBLE ENTRADA.

4.2.1. Perfil de susceptibilidad del fluconazol.

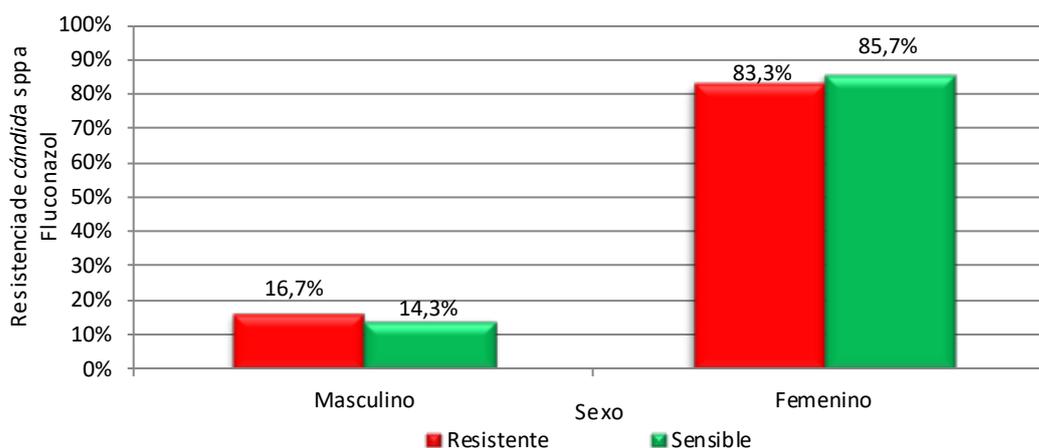
Los resultados obtenidos en ensayos de susceptibilidad del fluconazol frente a diversas especies de *Cándida spp.*, en asociación a diversos factores predisponentes a la presencia de resistencia de *Cándida* al fluconazol en los adultos de la tercera edad que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, se presentan a continuación.

Tabla N° 12 Resistencia de *Cándida spp.* al fluconazol aislada de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según sexo. Sucre 2012

Sexo	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	Nº	%	Nº	%		
Masculino	4	16,7%	4	14,3%	8	15,4%
Femenino	20	83,3%	24	85,7%	44	84,6%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012

Gráfico N° 12 Resistencia de *Cándida spp.* al fluconazol aislada de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según sexo. Sucre 2012



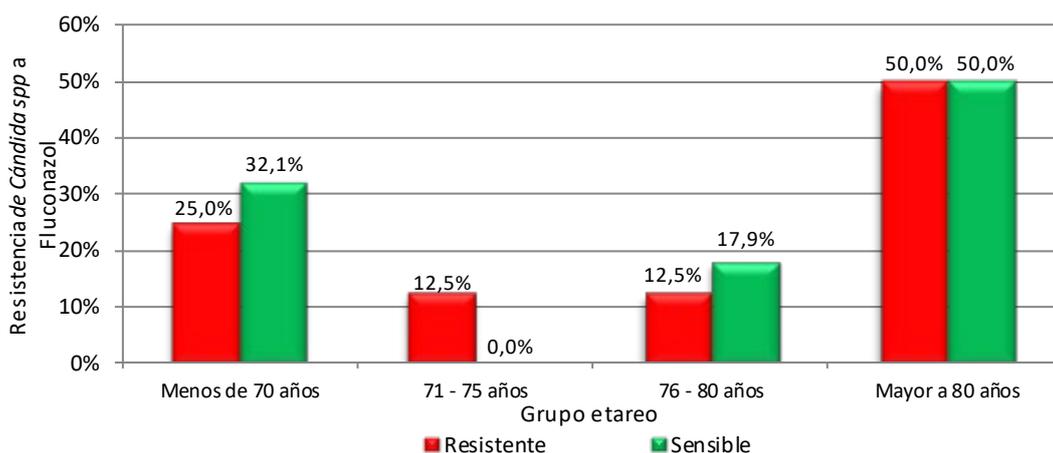
De la asociación entre resistencia de la *Cándida spp.* al fluconazol y el sexo de los adultos de la tercera edad se observó que el 83,3% de las cepas de *Cándida resistentes* aisladas de los varones es mayor al 16,7% de las cepas resistentes de la mujeres (Tabla y Gráfico N°12)

Tabla N° 13 Resistencia de la *Cándida* spp al fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según grupo etáreo. Sucre 2012

Grupo etario	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	Nº	%	Nº	%		
Menos de 70 años	6	25,0%	9	32,1%	15	28,8%
71 - 75 años	3	12,5%	0	0,0%	3	5,8%
76 - 80 años	3	12,5%	5	17,9%	8	15,4%
Mayor a 80 años	12	50,0%	14	50,0%	26	50,0%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012

Gráfico N° 13 Resistencia de la *Cándida* spp al fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según grupo etáreo . Sucre 2012



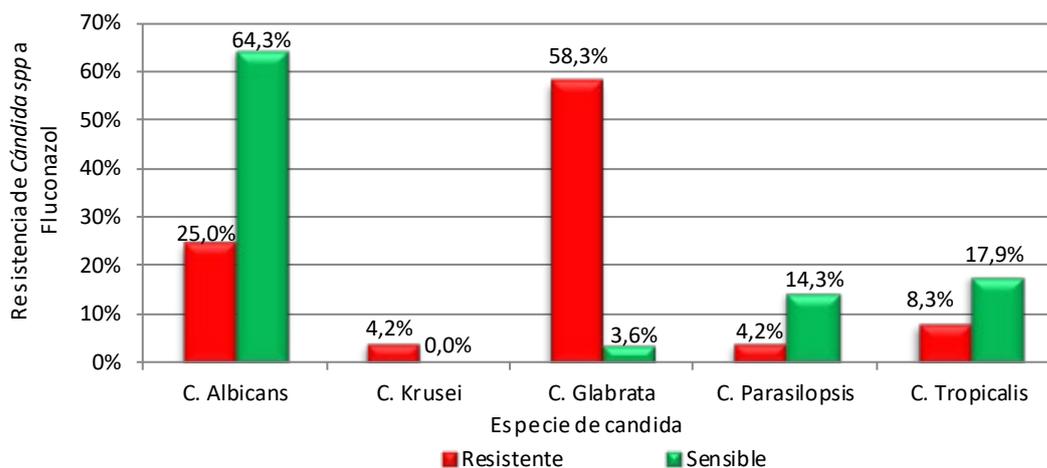
Asociando la resistencia de *Cándida* spp a fluconazol con la edad se observó que el 50% de las cepas de *Cándida* resistentes fueron aisladas de los adultos mayores portadores de prótesis dental mayores de 80 años, seguido de 25,0% menores de 70 años y 12,5% de adultos de entre 71 a 80 años de edad. (Tabla y Gráfico N°13)

Tabla N° 14 Resistencia de *Cándida spp* a fluconazol aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental del “Hogar 25 de Mayo”, según especie de *Cándida spp*. Sucre 2012

Especie de <i>Cándida spp</i>	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	Nº	%	Nº	%		
<i>C. albicans</i>	6	25,0%	18	64,3%	24	46,2%
<i>C. krusei</i>	1	4,2%	0	0,0%	1	1,9%
<i>C. glabrata</i>	14	58,3%	1	3,6%	15	28,8%
<i>C. parasilopsis</i>	1	4,2%	4	14,3%	5	9,6%
<i>C. tropicalis</i>	2	8,3%	5	17,9%	7	13,5%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012

Gráfico N° 14 Resistencia de *Cándida spp* a fluconazol en cepas aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dentales de del “Hogar 25 de Mayo”, según especie de *Cándida spp*. Sucre 2012



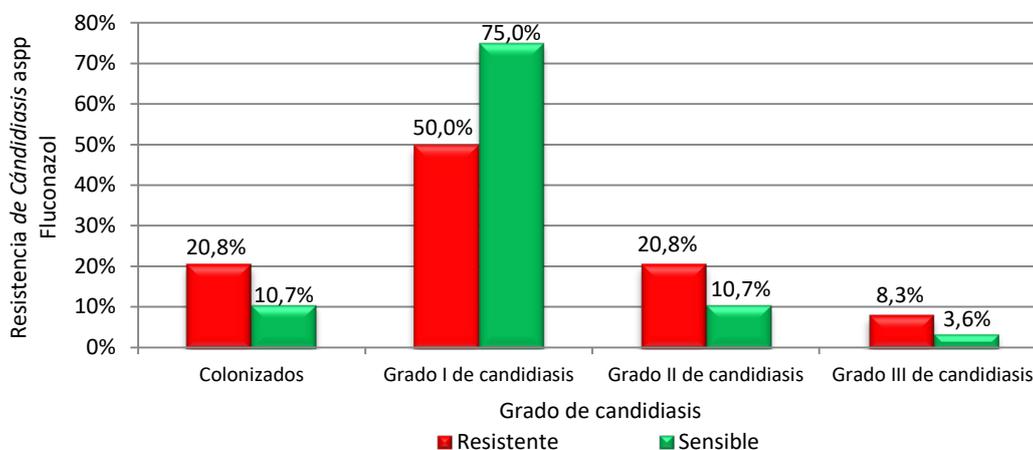
Relacionando la resistencia de la *Cándida spp* al fluconazol con la especie de la levadura se observó que el 58,3% de las cepas de *Cándida resistentes* aisladas de los adultos portadores de prótesis dental correspondieron a *C. glabrata*, el 25,0% *C. albicans*, el 8,3% *C. Tropicalis* y 4,2 % para *C. Krusei* y *C. parasilopsis*. (Tabla y Gráfico N°14)

Tabla N° 15 Resistencia de *Cándida spp* a fluconazol aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, grado de candidiasis subprotésica. Sucre 2012

Grado de candidiasis subprotésica	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	Nº	%	Nº	%		
Colonizados	5	20,8%	3	10,7%	8	15,4%
Grado I de candidiasis	12	50,0%	21	75,0%	33	63,5%
Grado II de candidiasis	5	20,8%	3	10,7%	8	15,4%
Grado III de candidiasis	2	8,3%	1	3,6%	3	5,8%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012
Colonizados: Son adultos portadores de prótesis de los que se aisló levaduras de *Cándida spp* sin manifestar candidiasis, ni presencia de Pseudomicelios, pero las cepas fueron incluidas en las pruebas de susceptibilidad, dado que son pacientes potenciales a desarrollar candidiasis subprotésica..

Gráfico N° 15 Resistencia de *Cándida spp*. a fluconazol aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, grado de candidiasis subprotésica Sucre 2012



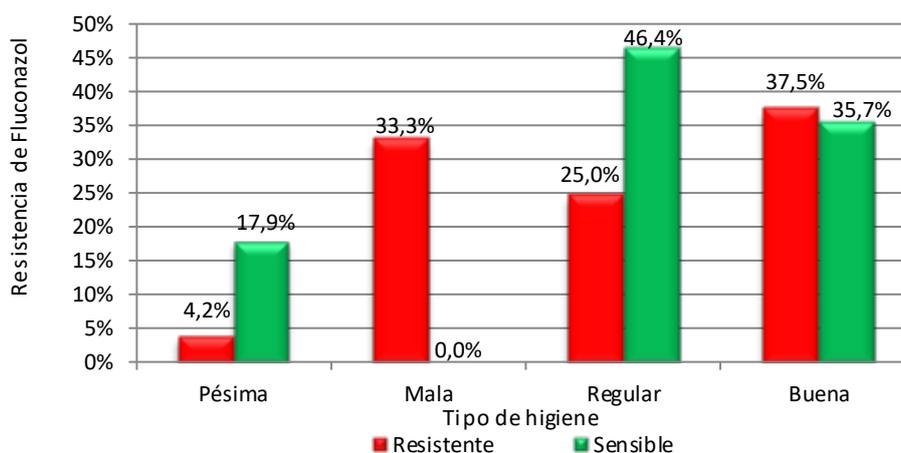
Relacionando la resistencia de *Cándida spp* a fluconazol con el grado de candidiasis subprotésica se observó que de 52 cepas de *Cándida spp* el 20,8% de las cepas resistentes correspondieron a pacientes colonizados. El porcentaje de cepas resistentes aisladas de adultos con grado de candidiasis I fue de 50 %, de personas con grado de candidiasis II 20,8% y de individuos con grado de candidiasis III 8,3% (Tabla y Gráfico N°15)

Tabla N° 16 Resistencia de la *Cándida* spp. al fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según hábitos higiénicos para remover el biofilm de las superficies protésicas. Sucre 2012

Hábitos higiénicos	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	Nº	%	Nº	%		
Pésima	1	4,2%	5	17,9%	6	11,5%
Mala	8	33,3%	0	0,0%	8	15,4%
Regular	6	25,0%	13	46,4%	19	36,5%
Buena	9	37,5%	10	35,7%	19	36,5%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012

Gráfico N° 16 Resistencia de la *Cándida* spp al fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según hábitos higiénicos para remover el biofilm de las superficies protésicas. Sucre 2012



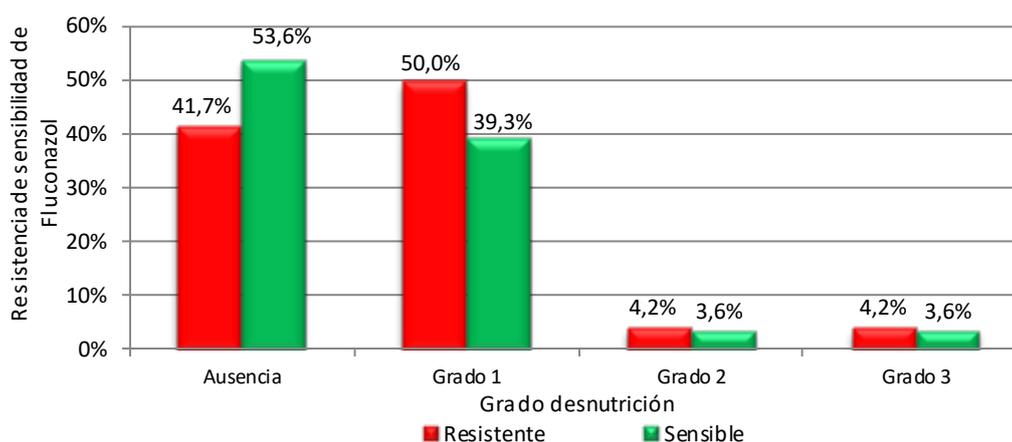
Relacionando la resistencia de *Cándida* spp. a fluconazol con los hábitos higiénicos aplicados a las prótesis para remover los biofilm adheridos al acrílico, se observó que el 37,5 % de las cepas de *Cándida* resistentes a fluconazol aisladas de los adultos mayores portadores de prótesis dental presentan prácticas higiénicas buenas, seguido de 33,3% prácticas higiénicas mala 25,0% prácticas higiénicas regular y 4,2% prácticas higiénicas pésima (Tabla y Gráfico N°16)

Tabla N° 17 Resistencia de *Cándida spp. a fluconazol* aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según grados de desnutrición. Sucre 2012.

Grado desnutrición	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	N°	%	N°	%		
Ausencia	10	41,7%	15	53,6%	25	48,1%
Grado 1	12	50,0%	11	39,3%	23	44,2%
Grado 2	1	4,2%	1	3,6%	2	3,8%
Grado 3	1	4,2%	1	3,6%	2	3,8%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012

Gráfico N° 17 Resistencia de *Cándida spp. a fluconazol* aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según grados de desnutrición. Sucre 2012.



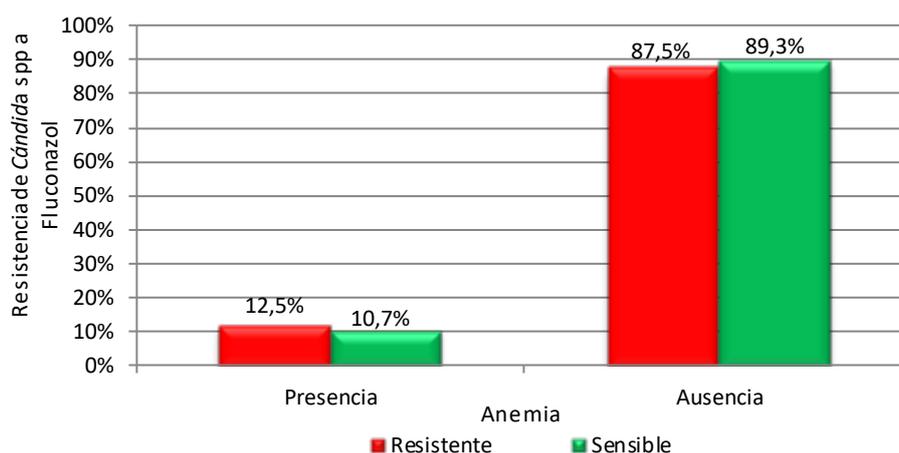
Asociando la resistencia de la *Cándida spp* al fluconazol con el grado de desnutrición se observó que el 50,0% de las cepas de *Cándida resistentes*, fueron aisladas de los adultos portadores de prótesis dental con grado de desnutrición I y en menor proporción 4,2% para el grado II y Grado III. (Tabla y Gráfico N°17)

Tabla N° 18. Resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de anemia. Sucre 2012.

Anemia	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	N°	%	N°	%		
Presencia	3	12,5%	3	10,7%	6	11,5%
Ausencia	21	87,5%	25	89,3%	46	88,5%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012

Gráfico N° 18 Resistencia de *Cándida spp.* al fluconazol aisladas de adultos portadores de prótesis dentales del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de anemia. Sucre 2012.



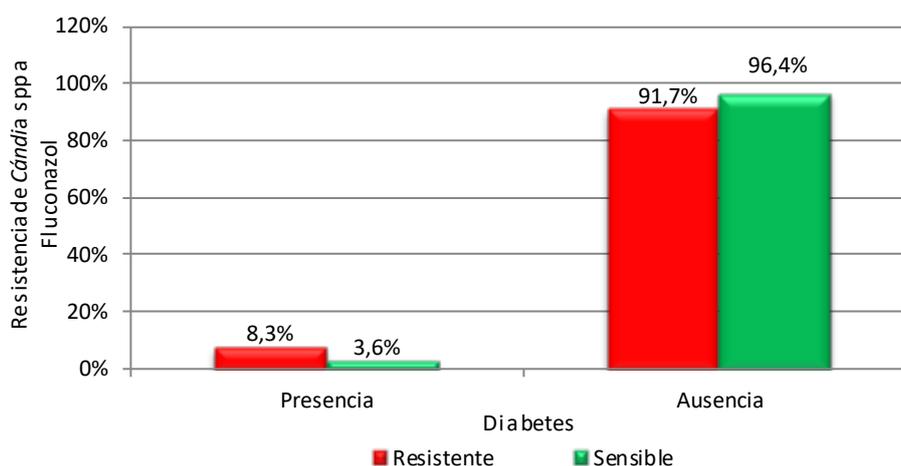
Se observó que unos 87,5 % de las cepas de *Cándida spp.* resistentes a fluconazol, aisladas de los adultos portadores de prótesis removible no presentaron anemia en relación al 12,5% que estaban anémicos. (Tabla y Gráfico N°18)

Tabla N° 19 Resistencia de *Cándida spp. a fluconazol* aisladas de prótesis dentales de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de diabetes. Sucre 2012

Diabetes	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	N°	%	N°	%		
Presencia	2	8,3%	1	3,6%	3	5,8%
Ausencia	22	91,7%	27	96,4%	49	94,2%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012

Gráfico N° 19 Resistencia de *Cándida spp. a fluconazol* aisladas de prótesis dentales de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de diabetes. Sucre 2012



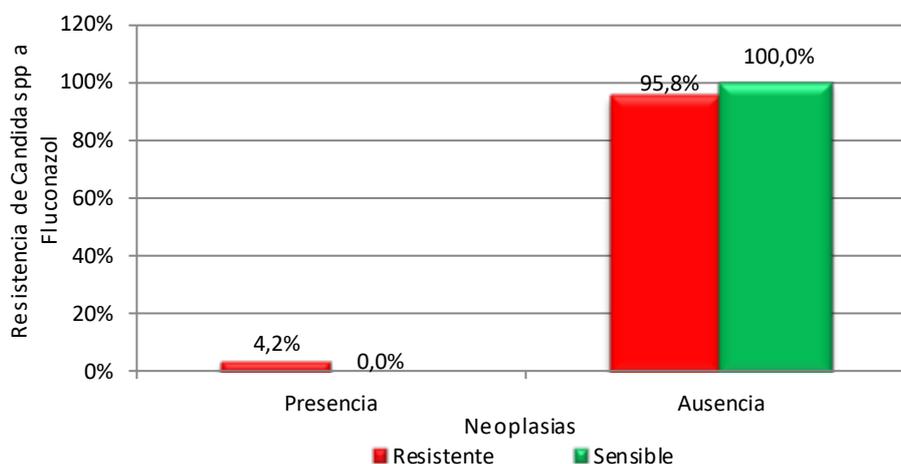
Se observó que el 91,7 % de las cepas de *Cándida resistentes* a fluconazol aisladas de los adultos portadores de prótesis removible no presentaron diabetes en relación al 8,3% de los diabéticos. (Tabla y Gráfico N°19)

Tabla N° 20 Resistencia de *Cándida spp.* a fluconazol aisladas de prótesis dentales de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según neoplasias. Sucre 2012

Neoplasias	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	Nº	%	Nº	%		
Presencia	1	4,2%	0	0,0%	1	1,9%
Ausencia	23	95,8%	28	100,0%	51	98,1%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Fuente: Elaboración propia, registro datos de laboratorio Microbiología Clínica Laboratorio Santa Rosa, 2012

Gráfico N° 20 Perfil de Sensibilidad del fluconazol en cepas de *Cándida* aisladas de prótesis dentales de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de neoplasias. Sucre 2012



Se observó que el 95,8 % de las cepas de *Cándida spp.* resistentes aisladas de los adultos portadores de prótesis removible no presentaron neoplasias en relación al 4,2% padece cáncer de mama. (Tabla y Gráfico N°20)

No se realizó la asociación estadística entre las variables presencia de neoplasia y la resistencia *Cándida spp.* debido a la presencia de una adulto mayor con neoplasio en nuestra población de estudio.

4.3. ANALISIS BIVARIADO.

La asociación estadística de la presencia de cepas de *Cándida spp.* resistentes al fluconazol, se presentan a continuación.

Cuadro N°1 Resistencia de *Cándida spp* al fluconazol aislada de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según sexo. Sucre 2012

Sexo	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	Nº	%	Nº	%		
Masculino	4	16,7%	4	14,3%	8	15,4%
Femenino	20	83,3%	24	85,7%	44	84,6%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Variables	Prev.	R. Prev	Intev. Conf. 95%		Chi cuadrado	p
			IC inf	IC sup		
Sexo						
Masculino	0,5000	1,1000	0,5120	2,3635	0,0563	0,8125
Femenino	0,4545	0,9091	0,4231	1,9533		

En relación al sexo los adultos mayores varones tienen un 50% de cepas resistentes. La RP es > 1 por lo tanto el ser varon es factor de riesgo para la portación de cepas de *Cándida spp* resistentes en relación a las mujeres. Observando el intervalo de confianza vemos que incluye la unidad y el valor de p de chi2 es $p > 0,05$ estadísticamente no significativa, por lo que no existe asociación entre el sexo de los adultos y la presencia de cepas resistentes.

Cuadro N°2 Resistencia de la *Cándida spp* al fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según grupo etéreo . Sucre 2012

Grupo etario	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	Nº	%	Nº	%		
Menos de 70 años	6	25,0%	9	32,1%	15	28,8%
71 - 75 años	3	12,5%	0	0,0%	3	5,8%
76 - 80 años	3	12,5%	5	17,9%	8	15,4%
Mayor a 80 años	12	50,0%	14	50,0%	26	50,0%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Variables	Prev.	R. Prev	Intev. Conf. 95%		Chi cuadrado	p
			IC inf	IC sup		
Grupo etario						
Menos de 70 años	0,4000	0,8667	0,411	1,8274	0,0024	0,9610
71 – 75 años	1,0000	2,1667	1,4305	3,2817		
76 – 80 años	0,3750	0,8125	0,303	2,1784		
Mayor a 80 años	0,4615	1,0000	-	-		

*Valor de Chi² y valor de p de tendencia lineal

En relación al grupo etareo el 100% de los adultos mayores de 71 a 75 años tienen cepas resistentes al fluconazol. La RP es > 1 por lo tanto el tener estas edades es un factor de riesgo para la portación de cepas de *Cándida spp* resistentes en relación a las otras edades. Observando el intervalo de confianza vemos que incluye la unidad y el valor de p de chi2 es p>0,05 es estadísticamente no significativa, por lo que no existe asociación entre el grupo etareo de los adultos y la presencia de cepas resistentes. (Cuadro N°2)

Cuadro N°3 Resistencia de *Cándida* spp a fluconazol en cepas aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dentales de del “Hogar 25 de Mayo”, según especie de *Cándida* spp. Sucre 2012

Especie de <i>Cándida</i> spp	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	Nº	%	Nº	%		
<i>C. albicans</i>	6	25,0%	18	64,3%	24	46,2%
<i>C. krusei</i>	1	4,2%	0	0,0%	1	1,9%
<i>C. glabrata</i>	14	58,3%	1	3,6%	15	28,8%
<i>C. parasilopsis</i>	1	4,2%	4	14,3%	5	9,6%
<i>C. tropicalis</i>	2	8,3%	5	17,9%	7	13,5%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Variables	Prev.	R. Prev	Intev. Conf. 95%		Chi cuadrado	p
			IC inf	IC sup		
Especie de <i>Cándida</i> spp						
<i>C. Krusei</i>	1,0000	2,2174	1,6381	3,0016	9,6922	0,0019
<i>C. Albicans</i>	0,2500	0,3889	0,1322	0,5427		
<i>C. Parasilopsis</i>	0,2000	0,4087	0,0369	1,2434		
<i>C. Tropicalis</i>	0,2857	0,5844	0,0942	0,9953		
<i>C. Glabrata</i>	0,9333	1,0000				

*Valor de Chi² y valor de p de tendencia lineal

En relación a la especie *Cándida* spp. el 100% de los adultos mayores con *C. krusei* en sus tejidos gingivales tienen cepas resistentes al fluconazol. La RP es > 1 por lo tanto el tener en su cavidad oral la *C. krusei* es un factor de riesgo para la portación de cepas de *Cándida* spp resistentes en relación a la portación de otras cepas. Observando el intervalo de confianza vemos que incluye la unidad y el valor de p de chi² es p<0,05 es estadísticamente significativa, por lo que existe asociación entre la especie *C. krusei* y la presencia de cepas resistentes. (Cuadro N°3)

Cuadro N°4 Resistencia de *Cándida spp* a fluconazol aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, grado de candidiasis subprotésica. Sucre 2012

Grado de candidiasis subprotésica	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	Nº	%	Nº	%		
Colonizados	5	20,8%	3	10,7%	8	15,4%
Grado I de candidiasis	12	50,0%	21	75,0%	33	63,5%
Grado II de candidiasis	5	20,8%	3	10,7%	8	15,4%
Grado III de candidiasis	2	8,3%	1	3,6%	3	5,8%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Variables	Prev.	R. Prev	Intev. Conf. 95%		Chi cuadrado	p
			IC inf	IC sup		
Grado de candidiasis						
Colonizados	0,6250	0,9375	0,3577	2,4571	0,2189*	0,6399*
Grado I de candidiasis	0,3636	0,5455	0,2177	1,3669		
Grado II de candidiasis	0,6250	0,9375	0,3577	2,4571		
Grado III de candidiasis	0,6667	1,0000				

*Valor de Chi² y valor de p de tendencia lineal

En relación al grado de candidiasis los adultos con grado de candidiasis III tienen un 66% de portación de cepas resistentes al fluconazol. La RP es = 1 por lo tanto el tener un grado de candidiasis III es un factor de riesgo indiferente para la portación de cepas de *Cándida spp* resistentes en relación a la portación de otros grados de candidiasis. Observando el valor de p de chi² es $p > 0,05$ estadísticamente no significativa, por lo que no existe asociación entre el grado de candidiasis y la presencia de cepas resistentes. (Cuadro N°4)

Cuadro N°5 Resistencia de la *Cándida spp* al fluconazol aisladas de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según hábitos higiénicos para remover el biofilm de las superficies protésicas. Sucre 2012

Hábitos higiénicos	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	Nº	%	Nº	%		
Pésima	1	4,2%	5	17,9%	6	11,5%
Mala	8	33,3%	0	0,0%	8	15,4%
Regular	6	25,0%	13	46,4%	19	36,5%
Buena	9	37,5%	10	35,7%	19	36,5%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Variables	Prev.	R. Prev	Intev. Conf. 95%		Chi cuadrado	p
			IC inf	IC sup		
Hábitos higiénicos						
Pésima	1,0000	0,8000	0,1845	3,4679	0,3682	0,5440*
Regular	0,3158	0,5132	0,2331	1,1297		
Buena	0,4737	0,7697	0,4060	1,4595		
Mala	0,6154	1,0000				

*Valor de Chi² y valor de p de tendencia lineal

En relación a los hábitos higiénicos los adultos con hábitos higiénicos malos tienen un 61% de portación de cepas resistentes al fluconazol. La RP es = 1 por lo tanto el tener hábitos higiénicos malos son un factor de riesgo indiferente para la portación de cepas de *Cándida spp* resistentes en relación a otros hábitos. Observando el valor de p de chi² es $p > 0,05$ estadísticamente no significativa, por lo que no existe asociación entre hábitos higiénicos y la presencia de cepas resistentes. (Cuadro N°5)

Cuadro N°6 Resistencia de *Cándida spp* a fluconazol aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removable del “Hogar 25 de Mayo”, según grados de desnutrición. Sucre 2012.

Grado desnutrición	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	Nº	%	Nº	%		
Ausencia	10	41,7%	15	53,6%	25	48,1%
Grado 1	12	50,0%	11	39,3%	23	44,2%
Grado 2	1	4,2%	1	3,6%	2	3,8%
Grado 3	1	4,2%	1	3,6%	2	3,8%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Variables	Prev.	R. Prev	Intev. Conf. 95%		Chi cuadrado	p
			IC inf	IC sup		
Grado desnutrición						
Ausencia	0,4000	0,8000	0,1845	3,4679	0,4403	0,5070*
Grado 1	0,5217	1,0435	0,2472	4,4046		
Grado 2	0,5000	1,0000	0,1409	7,0991		
Grado 3	0,5000	1,0000				

*Valor de Chi² y valor de p de tendencia lineal

En relación a los grados de desnutrición, los adultos con algún grado de desnutrición especialmente grado III tienen un 50% de portación de cepas resistentes al fluconazol. La RP es = 1 por lo tanto el tener grado III es un factor de riesgo indiferente para la portación de cepas de *Cándida spp* resistentes en relación a otros grados de desnutrición. Observando el valor de p de chi² es p>0,05 estadísticamente no significativa, por lo que no existe asociación entre grado III y la presencia de cepas resistentes. (Cuadro N°6)

Cuadro N° 7 Resistencia de *Cándida spp* a *fluconazol* aisladas de adultos mayores portadores de prótesis dental removible del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de anemia. Sucre 2012.

Anemia	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	Nº	%	Nº	%		
Presencia	3	12,5%	3	10,7%	6	11,5%
Ausencia	21	87,5%	25	89,3%	46	88,5%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Variables	Prev.	R. Prev	Intev. Conf. 95%		Chi cuadrado	p
			IC inf	IC sup		
Anemia						
Presencia	0,5000	1,0952	-	-	0,0404	0,5881**

**Valor p comprende el Test Fisher

Con respecto a la **presencia de anemia** debido al número reducido de adultos anémicos se realizó la asociación estadística entre las variables presencia de anemia y la resistencia *Cándida spp*. Según el valor de p del Test Fisher, siendo estadísticamente no significativa $p > 0,05$. (Cuadro N°7)

Cuadro N°8 Resistencia de *Cándida spp* a fluconazol aisladas de prótesis dentales de adultos mayores del “Hogar 25 de Mayo”, según presencia de diabetes. Sucre 2012

Diabetes	Fluconazol				Total	%
	Resistente		Sensible			
	N°	%	N°	%		
Presencia	2	8,3%	1	3,6%	3	5,8%
Ausencia	22	91,7%	27	96,4%	49	94,2%
Total	24	100,0%	28	100,0%	52	100,0%

Variables	Prev.	R. Prev	Intev. Conf. 95%		Chi cuadrado	p
			IC inf	IC sup		
Diabetes						
Presencia	0,6667	1,4848	-	-	0,5390	0,4413**

**Valor p comprende el Test Fisher

Con respecto a la **presencia de diabetes** debido al número reducido de adultos diabéticos se realizó la asociación estadística entre las variables presencia de diabetes y la resistencia *Cándida spp*. según el valor de p del Test Fisher, siendo estadísticamente no significativa $p > 0,05$. (Cuadro N°8)

4.2.2. Perfil de susceptibilidad del voriconazol.

Los resultados obtenidos en ensayos de susceptibilidad del voriconazol frente a cepas de *Cándida* aisladas de las prótesis dentales de los adultos mayores que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, no evidenciaron resistencia frente al fluconazol, por lo tanto, todas las cepas de las diversas especies de *Candida* aisladas fueron 100% sensibles al voriconazol.

4.4. DISCUSIÓN.

La candidiasis subprotésica es un proceso inflamatorio asociado a la utilización de prótesis dental removible en presencia de factores predisponentes a la candidiasis como deficiente higiene de las prótesis, estados de inmunodepresión entre otros. Frecuentemente afecta a adultos mayores portadores de prótesis dental removible. En el “Hogar 25 de Mayo” existen 52 adultos mayores portadores de prótesis dental removible de los cuales el 17,3% son ancianos varones y el 82,7% son mujeres. A los cuales se les realizaron exámenes exploratorios en rebordes gingivales que soportan prótesis removibles de los adultos mayores para diagnosticar presencia de candidiasis subprotésica, determinándose que el 78,8% de los tejidos gingivales presentaron algún grado de candidiasis en arcada superior o inferior y 21,2% ausencia de dicha patología. La prevalencia de candidiasis subprotésica identificada en nuestro estudio es similar al estudio de Carmona M. et,al el 2007quién reportó un 77% de candidiasis subprotésica en 44 pacientes atendidos en la Facultad de Odontología en Cartagena Colombia⁶.Por otro lado el 50% de los adultos portadores de protesis dental que residen en el Hogar 25 de Mayo presentó desnutrición, 11,5% anemia, 7.7 % diabetes y el 1,9 % neoplasias.

La candidiasis subprotésica se caracteriza por un enrojecimiento persistente del área de soporte de una prótesis removible, preferentemente palatina. El examen clínico y laboratorial realizado en los ancianos del “Hogar 25 de Mayo” demostró que el 63,3% presentó grado I caracterizado por un aspecto de enrojecimiento puntiforme, el 16,3 % grado II de aspecto eritematoso masivo liso, el 4,1% grado III representado por un masivo crecimiento hiperplásico y el 12,8% estuvo colonizado por levaduras de tipo *Cándida spp.* En comparación al estudio realizado el 2006- 2007 por Carmona L. el grado de candidiasis tipo I predomina en los portadores de prótesis dentales en un 52%⁶, pero incluyó mayores y menores de 60años. Los resultados obtenidos en nuestro estudio muestran un porcentaje mayor considerando que la edad avanzada es un factor para la candidiasis subprotésica y ofrece mayor probabilidad de portación de cepas resistentes.

Las levaduras son microorganismos de la microbiota normal que colonizan las superficies gingivales favorecidas por la portación de prótesis dentales removibles, sobre las cuales forman biofilm que impiden la llegada de antimicóticos a las zonas diana, observándose que de 52 adultos mayores incluidos en este estudio 94% presentó levaduras y sólo 3% ausencia de ellas. Las prácticas higiénicas aplicadas a las superficies de prótesis

removibles permiten la remoción de los biofilm. Las prácticas higiénicas aplicadas a las prótesis de los adultos mayores del “Hogar 25 Mayo” son: buena en el 40,4%, regular 34,6%, mala 23,1 % y pésima 1,9%.

Las levaduras del género *Cándida* están asociadas a la candidiasis subprotésica pertenecen a diversas especies. La *Cándida* es un hongo dispuesto en forma de levaduras que colonizan habitualmente los tejidos de la cavidad oral, pero aprovechan cualquier alteración de las defensas del hospedero, para producir manifestaciones clínicas. Se emplearon técnicas de cultivo en Agar Sabouraud para aislar a estos microorganismos, medios cromogénicos y enzimáticos para identificar las especies. De 49 adultos portadores de prótesis dental se aislaron 52 cepas de *Cándida spp*; de las cuales 46,2% fueron *Cándida albicans*, 28,8% *Cándida glabrata*, 13,5%, *Cándida tropicalis*, 9,6% *Cándida parasilopsis* y 1,9% *Cándida krusei*.

La *Cándida spp* posee gram facilidad para crecer y multiplicarse, uno de los factores de virulencia más importante de este microorganismo es la **capacidad de adherirse** tanto a células del hospedero, como a otros microorganismos e incluso a materiales inertes como el acrílico, la formación de **pseudomicelios** y la rapidez con que puede variar su morfología, son características de agresividad. Mediante métodos microscópicos tintoriales se identificaron pseudomicelios en la placa bacteriana adherida a las superficies acrílicas, observándose una distribución en el 79,6% de las prótesis y está ausente en el 20,4% de las mismas, debiéndose considerar que existen cepas de *Cándida glabrata* no formadoras de pseudomicelios.

Se ha descrito un aumento significativo de las especies de *Cándida albicans* y *Cándida no-albicans* que exhiben resistencia a los antimicóticos azólicos, en grupos humanos que manifiestan algún factor de riesgo a la presencia de resistencia, según estudios en países vecinos al nuestro como Argentina⁹², Chile⁴ y Colombia^{5,6}, aunque ninguno en candidiasis subprotésica. Nuestros resultados refuerzan la necesidad de conocer la susceptibilidad *in vitro* y estimar la asociación con factores que predispongan a la presencia de resistencia de la *Candida spp* a estos fármacos. En el área odontológica es importante, en adultos portadores de prótesis dental, hacer el diagnóstico de candidiasis subprotésica y el tratamiento de la patología de forma oportuna, pues un porcentaje de ellos harán candidiasis esofágica e infección sistémica.

4.3.1. DISCUSION DE LA RESISTENCIA DE LA *Cándida spp* a FLUCONAZOL Y VORICONAZOL.

4.3.2.1. Resistencia *Cándida spp* a fluconazol y factores predisponentes

En 1985 se describió por primera vez el fluconazol caracterizado por un anillo triazol, presencia de fluor en el benceno y un grupo hidroxilo adicional unido al átomo de carbono asimétrico. El fluconazol produce inhibición del estero 14 alfa-desmetilasa en la *Cándida spp*, que es un sistema de enzimas que depende de citocromo P 450 de microsoma; de ese modo altera la biosíntesis de ergosterol en la membrana citoplasmática y permiten la acumulación de los 14-alfa-metilesteroles. Su absorción por vía oral es excelente y la posibilidad de su aplicación por vía intravenosa, así como una distribución tisular amplia y fácil penetración líquidos corporales, incluidos esputo y saliva. Sus concentraciones plasmáticas máximas son de 4 a 8 mg/ml. El intervalo entre una dosis y la siguiente debe aumentarse de 24 a 48 horas si la depuración renal de creatinina es de 21 a 40 ml/min, y a 72 horas si es de 10 a 20 ml/min. y el 11 a 12% del fármaco se une a proteínas plasmáticas La excreción renal abarca el 90% de la eliminación y la vida media es de 25 a 30 horas⁵¹. Su uso es frecuente por sus características farmacociméticas, en relación con su posología y fácil disponibilidad en el mercado para el tratamiento de candidiasis; sin embargo el uso generalizado de fluconazol ha desarrollado en la *Candida spp* el riesgo potencial de resistencia. En nuestro país Bolivia el fluconazol es un antimicótico azolico incluido en la "Guía Clínica y Formulario para tratamiento de Enfermedades Infecciosas en Bolivia" del Ministerio de Salud y Deportes empleándose como tratamiento de elección en candidiasis orofaríngea⁹².

El análisis de nuestros resultados respecto de factores de riesgo y la aparición de cepas de *Candida* resistentes al Fluconazol en relación al **grupo etareo**, determinó que la mayor prevalencia cepas de *Cándida spp* resistentes a fluconazol correspondió al **grupo etario** de adultos mayores de **71 a 75** años fue 100% con una razón de prevalencia de RP=2,16 (IC: 1,4305-3,2817) y mayores de **80 años 46%** RP=1 (1,4305 - 3,2817), observándose a la *Cándida glabrata* como la especie resistente más frecuente en ambos grupos de riesgo. Esta elevada prevalencia podría deberse a que la *C. glabrata* ofrece frecuentemente sobreexpresión de la mutación CgPDR1 que codifican proteínas transportadora de tipo ABC⁷⁴, que ocasionan la exportación excesiva de fluconazol evitando que alcance su sitio de acción. Por otro lado la menor prevalencia de cepas resistentes correspondió a las edades comprendidas de 76 a 80 años con 37,0% RP=

0,81 (IC: 0,3049–2,0246) y los menores de 70 años 40% RP=0,86 (IC: 0,411 -1,8274), ambos grupos de edad podrían ser un factor de protección para la no portación de cepas de *Cándida spp* resistentes en relación a los adultos de 71-75 años y mayores de ochenta. Sin embargo, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre los diferentes grupos etarios y la resistencia *Cándida spp* a fluconazol $p > 0,05$

El análisis de nuestros resultados respecto al **grupo etáreo** determinó que el tener mayor edad no es un factor de riesgo para la portación de cepa de *Cándida spp* resistente a fluconazol en relación a edades de adultos mayores más jóvenes, esta asociación no fue estadísticamente significativa dado que el valor de p del χ^2 de tendencia lineal fue $> 0,05$. Wingard *et al.*, 1991 mencionó que el incremento de la edad de los enfermos está relacionada con el aumento de la incidencia de candidiasis producida por *Cándida glabrata*⁸⁵, Nuestros resultados expresaron la tendencia de mayor prevalencia de portación de cepas resistentes a fluconazol, en edades avanzadas con uso habitual de prótesis. Ello nos lleva a pensar que la probabilidad de presentar ineficacia al tratamiento con fluconazol es mayor en adultos mayores de ochenta y adultos de 71 a 75 años en comparación a otros grupos etáreos. La especie resistente más frecuentemente aislada en adultos mayores de 80 años fue la *C. glabrata*, ello demuestra un desplazamiento de las especies de *Cándida albicans* endógenas por especies de *Cándida no albicans*

Respecto a la **especie de Cándida spp**, la mayor prevalencia de cepas resistentes a fluconazol se registraron en la **especie Cándida krusei** 100%, este es un resultado esperado, pues dicha especie de *Cándida* presenta resistencia natural a fluconazol. La **Cándida glabrata** evidenció una resistencia de 93 % RP= 1, su resistencia podría deberse a una resistencia adquirida de la especie, situación que podría ser motivo de un estudio posterior. En comparación a otros estudios realizados en otros países, al igual que en nuestro estudio, prevalece la alta resistencia de la *Cándida glabrata* a fluconazol, así tenemos la de Buitron, 2009 quién detectó 68,2% de resistencia de *Cándida glabrata* a fluconazol mediante pruebas de placas sensidiscos en su estudio sobre *Cándidas* oportunistas emergentes⁸⁶ y Gutierrez MJ., 2012 que observó 66,7% de cepas *Cándida glabrata* resistentes a fluconazol de pacientes hospitalizados⁸⁷. Entre otras especies detectadas en nuestro estudio la **Cándida tropicalis** demostró un 28% RP= 0,30 (0,0942- 0,9953) la **Cándida albicans** 25% RP =0,27 (0,1322– 0,5427) y menor prevalencia de resistencia la **Cándida parasilopsis** con 20,0% RP= 0,21 (IC: 0,0369 – 1,2434), Por cuanto la *Cándidas albicans*, *Cándida parasilopsis* y *Cándida tropicalis* RP<1

serían consideradas como factores de protección para la portación de cepas sensibles a fluconazol en adultos con uso habitual de prótesis dental. Meis *et al*, 2000 Barcelona, analizó la sensibilidad de 2073 cepas de *C. glabrata* de diferentes orígenes y hospitales utilizando el método de difusión en agar con discos de 25 µg de fluconazol y detectó una sensibilidad a fluconazol del 99% para *C. albicans*, 94% en *C. tropicalis*, 90% en *C. parapsilosis* y solamente del 26% para *C. glabrata*, en comparación a nuestros resultados la *Cándida albicans*, *Cándida tropicalis* y *Cándida parasilopsis* aún presentan un porcentaje de sensibilidad alto.⁸⁸ La resistencia observada en las especies de *Cándida spp* a fluconazol, en nuestro estudio, probablemente se deberían a: a) las modificaciones del gen *ERG11* codificante de la 14 lanosterol desmetilasa, que produce enzimas con menor afinidad por estos compuestos, b) la sobreexpresión del gen anterior, c) la activación, por parte del hongo, de vías metabólicas alternativas aunque, como se ha dicho, son menos eficientes y también son bloqueadas por los nuevos azoles, y d) la inducción de sistemas de expulsión activa⁵⁶. El análisis estadístico demostró que existe **asociación estadísticamente significancia** entre la resistencia de *Cándida spp* a fluconazol y la especie de las levaduras *Cándida spp* $p < 0,0019$. (Cuadro N°3)

Respecto a la **especie de *Cándida spp*** el estar colonizado por una especie de *Cándida krusei* o *Cándida glabrata* es un factor de riesgo para la portación de cepas de *Cándida spp* resistentes a fluconazol en relación a los adultos mayores colonizados por otras especies como la *Cándida albicans*, *Cándida parasilopsis* o *Cándida tropicalis*, esta asociación fue estadísticamente significativa dado que el valor de p de χ^2 de tendencia lineal fue $< 0,05$. Por lo tanto, debido a la resistencia natural que ofrece la *Cándida krusei* a fluconazol, no incluirá este fármaco azólico en el tratamiento farmacológico de la candidiasis subprotésica.

Es importante mencionar que el reporte de falla terapéutica empleando fluconazol en el tratamiento de candidiasis subprotésica en un estudio anterior en el 2010 realizado por el servicio odontológico del “Hogar 25 de Mayo”, en algunos adultos portadores de prótesis dental, probablemente se debió a la presencia de una resistencia natural en el caso de *Cándida krusei* o resistencia adquirida *Cándida glabrata*. Otro factor de falla terapéutica podría ser la presencia de 1 o 2 cepas de *Cándida spp* resistentes asociada a la candidiasis subprotésica. En nuestro estudio se aisló de los tejidos gingivales de un anciano una asociación de *Cándida albicans* sensible y *Cándida glabrata* resistente; en otros 2 adultos mayores se aisló asociaciones de *Cándida albicans* - *Cándida tropicalis*

(1) y *Cándida albicans* - *Cándida tropicalis* (1). Por ello se sugiere aplicar las pruebas de identificación de especie y pruebas de susceptibilidad a Fluconazol como instrumentos que facilite al profesional odontólogo una prescripción adecuada para evitar el fracaso terapéutico.

Según el **grado de candidiasis**, la mayor prevalencia de cepas de *Cándida spp* resistentes a fluconazol correspondió al **grado de candidiasis III** 66 % con una razón de prevalencia RP= 1,00 seguida grado II RP= 0,93 en relación a los colonizados 62%= 0,93 RP<1 Mientras la menor prevalencia de cepas resistentes perteneció a **la candidiasis grado I** con 36% siendo su razón de prevalencia RP= 0,54 Considerando su razón de prevalencia, la candidiasis grado I, II y colonizados son factores de protección RP<1 en relación a la portación de cepas sensible en adultos mayores. No existen estudios disponibles que relacionen el grado de candidiasis subprotésica en adultos mayores de 60 años con la presencia de resistencia de *Cándida spp*. Sin embargo vemos que las Cepas resistentes de *Cándida albicans* predominan en el grado de candidiasis I, la *Cándida glabrata* resistente en grado de candidiasis II y grado III. La prevalencia de cepas resistentes en candidiasis protésica podría asociarse a estados inflamatorios progresivos de la enfermedad observados en el grado III de candidiasis donde predomina la respuesta Th2 pro-inflamatoria relacionada con la producción de IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10²⁷, asimismo existe presencia de pseudohifas. Algunas especies como la *Cándida glabrata* genera proteinasas que aseguran su adherencia tisular contribuyendo a disminuir los niveles de Ig A, disminución cuantitativa y cualitativa de linfocitos T que llevan a una modificación de microambiente entre la superficie protésica y la mucosa manifestando hiperemia, aspecto nodular o granular, semeja un empedrado de pequeños nódulos, que no desaparecen una vez eliminadas las *Cándidas*. La *Cándida glabrata* por su característica haploide tiene mayores posibilidades de presentar mutaciones favorecida por la modificación de microambientes en superficies mucosas con componentes inflamatorios⁷⁴. Sin embargo, no se encontró asociación estadísticamente significativa entre la variable grado de candidiasis y la resistencia *Cándida spp* a fluconazol p>0,05. A pesar de ello, considerando los resultados observados en nuestro estudio el tratamiento empleando fluconazol en adultos portadores con candidiasis subprotésica, tendría menor probabilidad de eficacia terapéutica por la prevalencia de resistencia adquirida de la *Cándida glabrata* en procesos inflamatorios grado III de candidiasis. (Cuadro N°4)

Según el **grado de candidiasis**, el tener un grado de candidiasis más severo no es un factor de riesgo para la portación de cepas resistentes de *Cándida spp* a fluconazol en relación a grados de candidiasis leves, esta asociación no fue significativa dado que el valor de p de χ^2 de tendencia lineal fue $>0,05$. Sin embargo el tener algún grado de candidiasis es un factor de riesgo y la ausencia de la patología es un factor de protección para la portación de cepas resistentes. Por lo tanto los adultos mayores afectados con candidiasis subprotésica tienen mayor probabilidad de presentar cepas de *Cándida spp* resistentes si fuesen tratados farmacológicamente con fluconazol. La *Cándida glabrata* y *Cándida tropicalis* fueron las cepas resistentes más frecuentemente aisladas de los tejidos gingivales de los adultos mayores con candidiasis subprotésica. En nuestro medio no existen estudios sobre grados de candidiasis subprotésica en adultos mayores y tipificación de cepas resistentes, siendo nuestros resultados un aporte significativo.

Según los **hábitos higiénicos**, la mayor prevalencia de cepas de *Cándida spp* resistentes a fluconazol se registró en las prácticas higiénicas mala 100% RP= 6,00(IC: **1,0026 - 35,9078**), buena 47,37% RP=2,84 (0,4465-18,0917), luego el hábito higiénico regular 31,58 % RP= 1,89, el hábito higiénico **pésimo** aplicado a las prótesis dentales fue de 16,67% siendo su razón de prevalencia RP= 1.00 (IC: 1,6381–3,0016). A pesar de mostrar una razón de prevalencia $RP>1$ las prácticas higiénicas buena, regular y pésima en todas existe un factor de riesgo, pero la probabilidad de portar una cepa resistente a fluconazol es mayor en la higiene buena y pésima. Nuestro estudio registró a la *Cándida glabrata* como la especie resistente a fluconazol aislada con frecuencia en las prácticas higiénicas malas de los adultos mayores y en menor proporción la *Cándida tropicalis* y *Cándida krusei*. La prevalencia de resistencia de la *Cándida spp* a fluconazol en adultos con hábitos higiénicos deficientes podría asociarse a la formación creciente de biofilm entre superficie acrílica de la prótesis y tejidos gingivales en prótesis insuficientemente higienizadas. Se ha visto que los biofilms fúngicos se relacionan con la susceptibilidad disminuida con los antimicóticos, porque permiten la acumulación de *S. cerevisiae*. La *Sacharomyces* es un género de levaduras similares a la *Cándida spp* que transportan antimicóticos a través de bombas de eflujo, produciendo la salida del fármaco y reduciendo su acumulación intracelular y sobreexpresión de los genes de resistencia *CDR1* como *MDR1* frente a fluconazol⁸³. Sin embargo, no se encontró asociación y significancia estadística entre las prácticas de higiene y la resistencia *Cándida spp* a fluconazol $p>0,05$. No tenemos conocimiento de estudios que comparen la resistencia de

las *Cándida spp* a fluconazol con el tipo de higiene aplicado a las prótesis dentales, realizadas en el área odontológica. (Cuadro N°5)

Según los **hábitos higiénicos**, entre los hábitos higiénicos eficientes o deficientes no se observó un factor de riesgo o protección definido para la portación de cepas *Cándida spp* resistentes a fluconazol; y la asociación hábitos higiénicos y resistencia de *Cándida spp* a fluconazol no fue estadísticamente significativa dado que el valor de p de χ^2 de tendencia lineal fue $> 0,05$. Sin embargo se observó en nuestro estudio que los adultos mayores con diabetes, que realizaban prácticas higiénicas muy buenas no estaban colonizados por especies de *Candida spp*, de esta manera tenían menor probabilidad de hacer candidiasis subprotésica y de adquirir una cepa resistente. Por otro lado la *Cándida glabrata* predominó en los hábitos higiénicos malos, la *Candida tropicalis* en los hábitos higiénicos regulares y la *Cándida krusei* en adultos con hábitos higiénicos malos.

Según **grado de desnutrición** la mayor prevalencia de cepas de *Cándida spp* resistentes a fluconazol que registró el **grado de desnutrición II** fue 50% y grado III 50% siendo su razón de prevalencia $RP=1,00$; seguida de grado de **desnutrición I** 52% $RP = 1,04$ (0,2472 - 4,4046) y la menor prevalencia correspondió a la **ausencia de desnutrición** con 40,00% una razón de prevalencia $RP= 0,80$ (IC: 0,1845–3,4679). Por lo tanto la ausencia de desnutrición en los adultos es un factor de protección $RP<1$ en relación aquellos adultos con desnutrición grado I, II, III para la portación de cepas sensibles a fluconazol en adultos mayores que usualmente portan prótesis dental. La prevalencia de resistencia al fluconazol probablemente se explicaría porque durante los estados de desnutrición existe disminución en el recuento total de linfocitos (<1.500), el índice de CD3/CD4 (<50) y la ausencia en la respuesta de inmunidad celular retardada facilitando la predisposición a procesos de candidiasis de aparición frecuente, incrementado la posibilidad de ser colonizados por especies resistentes como *Cándida glabrata* y *Cándida tropicalis*, observada en nuestro estudio en los desnutridos. Sin embargo, no se encontró significancia estadística entre el grado de desnutrición y la resistencia *Cándida spp* a fluconazol $p>0,05$. (Cuadro N°6)

Según **grado de desnutrición** el tener algún grado de desnutrición es un factor de riesgo en relación al no tener desnutrición, esta asociación no es estadísticamente significativa dado que el valor de p de χ^2 de tendencia lineal es $> 0,05$. Sin embargo los adultos mayores desnutridos del “Hogar 25 de Mayo” afectados con candidiasis

subprotésicatienen tienen mayor probabilidad de presentar una cepa de *Cándida spp* resistente si son tratados farmacológicamente con fluconazol. En nuestro estudio las cepas resistentes más frecuentes aisladas de los tejidos de los adultos mayores desnutridos, fueron la *Cándida glabrata* y *Cándida tropicalis*.

Considerando la **presencia de anemia** 3 adultos mayores de 6 portadores de prótesis dental *presentó cepas de Cándida spp resistentes a fluconazol*. La presencia de resistencia podría asociarse a la colonización de levaduras resistentes *C. glabrata* y *Cándida tropicales* identificada en los tejidos gingivales de los adultos mayores. Cuya predisposición a candidiasis subprotésica es evidente pues existe una disminución de lactoferrinas de la saliva favoreciendo la adhesión de estas levaduras y en comparación con otros estudios que evidenciaron *Cándidas no albicans* en pacientes anémicos. Sin embargo, la asociación estadística entre presencia de anemia y resistencia de *Cándida spp* a fluconazol por el número reducido de adultos anémicos que participaron en nuestro grupo de estudio se obtuvo según el valor de p del Test de Fischer correspondió a $p>0,05$, siendo estadísticamente no significativo.

Con respecto a la **presencia de diabetes** 2 adultos mayores de 3 portadores de prótesis dental *presentaron cepas de Cándida glabrata resistentes a fluconazol*. Los diabéticos presentan una disminución de la saliva, con menor presencia de sustancias antifúngicas en los tejidos gingivales como la lisozimas, lactoferrina, lactoperoxidas y glucoproteínas frente a la adhesión de las *Cándidas*. Esta situación eleva el riesgo de candidiasis subprotésica frecuente y concomitantemente aumenta la probabilidad de presentar resistencias a los azoles. Debido al número reducido de adultos diabéticos no se realizó la asociación estadística entre las variables presencia de diabetes y la resistencia *Cándida spp*. La asociación estadística entre las variables presencia de diabetes y la resistencia *Cándida spp*. según el valor de p del Test Fisher, correspondió a $p>0,005$, siendo estadísticamente no significativo.

Se registró sólo una cepa de *Cándida glabrata* resistente en un adulto mayor de 80 años sexo femenino con **neoplasia**, por lo que no se realizó la asociación estadística entre las variables presencia de neoplasias y la resistencia *Cándida spp* a fluconazol. Otros estudios que valoraron la especie en pacientes con neoplasia han observado que la *Cándida glabrata* es la más frecuente.

Por lo tanto, según los datos analizados el tratamiento antimicótico empleando fluconazol en candidiasis subprotésica, en adultos portadores de prótesis dental con antecedentes de edad avanzada, prácticas higiénicas deficientes aplicadas a la prótesis, se debe insistir en identificar la o las especies de *Candida* que colonizan el tejido gingival, y persuadir al odontólogo de solicitar una prueba de susceptibilidad de la *Candida spp* a fluconazol, previa a la selección de este fármaco azólico para evitar fracaso terapéutico.

4.3.2.1. Resistencia de *Cándida spp* a voriconazol.

En noviembre de 2003 se aprobó el uso de voriconazol para tratar la candidiasis esofágica y a finales de diciembre de 2004 la FDA permitió su utilización como tratamiento de la candidemia en pacientes no neutropénicos y en las candidiasis diseminadas de piel y mucosas. En Europa, el voriconazol fue aprobado por la *European Medicines Agency* (EMA), en 2002, para el tratamiento de la aspergilosis invasora, las infecciones invasoras graves por *Candida* resistentes al fluconazol (incluida *Candida krusei*) y las infecciones fúngicas graves causadas por *Scedosporium spp.* y *Fusarium spp.*; en 2005 se ampliaron sus indicaciones al tratamiento de las candidemias en pacientes noneutropénicos

El voriconazol es un triazol de segunda generación derivado del fluconazol, pero con una potencia y espectro de actividad mayores. Molecularmente se diferencia por la sustitución de un anillo triazol por una fluoropirimidina y por la adición de un grupo -metilo en la cadena propílica que une el anillo triazol con la fluoropirimidina, lo que le confiere una mayor actividad fungicida frente a los hongos filamentosos⁸⁸

En nuestro estudio no se detectaron cepas de *Cándida spp* resistentes a voriconazol, razón por la cual no se realizó el análisis bivariado estadístico. Las 52 cepas aisladas de 49 adultos mayores portadores de prótesis dental presentaron un 100% de sensibilidad a este fármaco. Ante lo cual, el voriconazol podría ser considerado como una buena alternativa para el tratamiento farmacológico de pacientes con candidiasis subprotésica resistente a fluconazol e itraconazol, fármacos frecuentemente empleados en nuestro medio, siempre y cuando se consideren los efectos adversos descritos en la literatura para este fármaco. El voriconazol es un derivado sintético del fluconazol Inhibe el citocromo P450 dependiente de 14 lanosterol demetilasa, la enzima requerida para la síntesis de ergosterol. Esta enzima es importante en la producción y mantención de la

pared celular fúngica, por otro lado inhibe los pasos posteriores de la vía sintética hacia el ergosterol.⁸⁷ Llevando a la acumulación de precursores que poseen un efecto tóxico directo sobre las células fúngica. Tiene mayor afinidad sobre las enzimas de la vía del ergosterol en diversas especies de *Cándida spp* incluyendo la *C. tropicalis*, *C. parasilopsis*, *C. albicans*, *C. glabrata* y *C. Krusei*, en relación al fluconazol observada en las pruebas de susceptibilidad in vitro empleadas en el estudio.

Al comparar nuestros resultados con otro estudio realizado por J. Pemán et al en el Hospital universitario La Fe en Madrid el 2006 a un total de 27.340 aislamientos de levaduras, 24.177 del género *Cándida*, 2726 del género *Cryptococcus*, 453 de otros géneros y 104 *Prototheca*⁸⁹. Aproximadamente, el porcentaje de resistencia de las levaduras al voriconazol es del 1%, y el 71% de los aislamientos resistentes al fluconazol son sensibles al voriconazol. En nuestro medio aún no existen estudios sobre la presencia de resistencia al voriconazol, siendo este estudio el primero en evidenciar la sensibilidad de las cepas de *Cándida spp* a voriconazol, constituyendo un aporte para los odontólogos y médicos frente a la posibilidad de elegir este fármaco en pacientes con candidiasis subprotésica resistente a fluconazol, especialmente en aquellos con posibilidad que algunos de estos pacientes puedan desarrollar candidiasis sistémica.

CAPÍTULO V

CAPÍTULO V

5. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES-

5.1. CONCLUSIONES

- En el estudio 52 adultos mayores portadores de prótesis dental, en la mayoría de ellos, se aisló levaduras del género *Cándida spp.* en el 94,2% (49) Siendo las especies frecuentemente aisladas de los tejidos gingivales de 49 adultos portadores de prótesis dental *Cándida albicans* 46,2%, *C. glabrata* 28,8%, *C. tropicalis* 13,5%, *C. Parasilopsis* 9,6% y *C. krusei* 1,9%.
- La mayoría de los adultos portadores de prótesis dental que residen en el “Hogar 25 de Mayo” presentaron candidiasis subprotésica en un 78,8% (41) y solo el 21,2% (11) ausencia. Al investigar el grado de candidiasis subprotésica se observó que el grado I de candidiasis subprotésica correspondió al 63,3% de los adultos mayores, grado II 16,3% y grado III 4,1 %.
- El estudio de susceptibilidad de las 52 cepas de *Candida spp* aisladas 49 adultos con prótesis dental, demostró que el 38,5% fue resistente a fluconazol, por el contrario el 100% de las cepas fue sensible a voriconazol.
- La presencia de *Cándida spp* resistente al fluconazol se asoció a la especie de *Cándida* siendo *C.krusei* y la *C. glabrata* un factor de riesgo $p < 0,05$.
- Respecto a la edad como factor de riesgo, si bien no se evidenció una asociación estadística, se observa que la especie *C. glabrata* resistente a fluconazol fue aislada con mayor frecuencia en adultos portadores de prótesis dental con edad avanzada mayores de 80 años.
- Las otras variables estudiadas como: grado de candidiasis, hábitos higiénicos y grado de desnutrición no presentaron asociación estadísticamente significativa con la portación de cepas *Cándida spp.* resistente a fluconazol en adultos mayores portadores de prótesis dental.
- Los resultados obtenidos en este estudio, inédito en Bolivia, evidencian la necesidad de incorporar el estudio de susceptibilidad antifúngica a los fármacos

utilizados en su tratamiento, especialmente en nuestro país, en el cual la automedicación y la venta libre de antimicóticos constituyen una práctica habitual.

5.2. RECOMENDACIONES

A los profesionales odontólogos en función a los resultados obtenidos en el presente estudio.

- Solicitar el aislamiento, identificación y pruebas de susceptibilidad de *Cándida spp.* debido a su variabilidad en su perfil de resistencia a fluconazol.
- Considerar el uso de voriconazol como tratamiento alternativo de la Candidiasis subprotésica por *C. krusei* y *C. glabrata* resistentes.
- Frente a la candidiasis subprotésica por *Candida spp con Sensibilidad Disminuida* determinada por fungigrama solicitar su confirmación por métodos de Concentración Mínima Inhibitoria.

A los **pacientes portadores de prótesis removible total:**

- Las prácticas higiénicas categorizadas como pésimas aplicadas en prótesis dentales podrían ser un factor de riesgo para la presencia de cepas levaduriformes resistentes al fluconazol, sugiriéndose mejorar las técnicas o desinfectarlas para no portarlas.

A los **investigadores y lectores** del presente estudio

- Realizar estudios de asociación del pH de cavidad bucal con la presencia de cepas de *Candida spp* resistentes a fluconazol y voriconazol.
- Llevar a cabo nuevos estudios de susceptibilidad de levaduras a fluconazol y voriconazol especialmente en artritis reumatoidea, diabéticos, anémicos y con neoplasias.
- Realizar nuevos estudios experimentales incluyendo el uso del voriconazol en el tratamiento de candidiasis subprotésica.
- Investigar las bases genéticas de los mecanismos de resistencias observadas en las especies de *Candidas* a fluconazol.
- Realizar estudios de seguimiento farmacoterapéutico de las reacciones adversas del uso del voriconazol en los pacientes con candidiasis subprotésica.

BIBLIOGRAFIA.

1. De la Cruz M. L. Valoración de la eficacia anti fúngica de los desinfectantes empleados en la higienización de prótesis dentales removibles de personas de la tercera edad del asilo “25 de mayo”, mediante métodos microbiológicos in vitro, sucre 2010 Tesis del Programa de Maestría de la Especialidad de Microbiología versión II. Sucre 2009-2010
2. Ucar Barroeta A, Rojas G. y Ballester LA. Acción de agentes químicos en la eliminación de *Cándida* en Prótesis dentales. Fundación Acta Odontológica Venezolana RIF: J-30675328-1 - ISSN: 0001-6365 - Caracas – Venezuela, 2006 [Citado 3 de noviembre del 2011] disponible en: www.actaodontologica.com/ediciones/2007/2/candida_albicans_prottesis_dentales.asp
3. Porte L. et. Al Susceptibilidad a azoles y anfotericina B de aislados de *Candida* spp. Experiencia de una red de salud universitaria, entre 2004 y 2010. Rev Chil Infect 2012; 29 (2): 149-155. [Citado 3 de noviembre del 2011] <http://www.scielo.cl/pdf/rci/v29n2/art05.pdf>
4. Duarte I. y Herrera L. Concentración Mínima Inhibitoria de Anfotericina B contra *Cándida albicans*”. Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera. Impresa ISSN 1017- 8546. Costa Rica v.30 n1-2 San José 1995. [Citado 5 de mayo del 2012] disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1017-85461995000100008&script=sci_arttext
5. Cowen L.E, Anderson JB y Kohn LM. Evolución de la Resistencia Antibiótica de *Candida albicans*. Rev. Evolution of Drug Resistance in *Cándida albicans* Annual Review of Microbiology 56:139-165, 2002 Gutiérrez C. et. al “Sensibilidad a fluconazol y voriconazol de aislamientos de *Cándida sp.*, obtenidos de mucosa oral de pacientes con sida Revista asociación Colombiana de infectología vol.11-4, 2007 [Citado 5 de mayo del 2012] disponible en: http://www.revistainfectio.org/site/Portals/0/volumen11_4/sensibilidad.pdf
6. Carmona M. et. Colaboradores “Presencia de *Cándida* en pacientes con estomatitis subprotésica que acuden a la Facultad de Odontología de la Universidad de Cartagena en el periodo transcurrido entre agosto 2006 a junio 2007” Revista de la Facultad de Ciencias de la Salud de Cartagena Duazary 2do trimestre 2008, vol 5 N°2septiembre 2007

7. Rueda Gordillo F."Caracterización de las cepas de *Cándida albicans* aisladas de la cavidad oral en pacientes portadores de VIH y sanos" Tesis Doctoral de la Universidad de Colima Facultad de Medicina Colima, junio 2008
8. Bartłomiej W. Loster, Jolanta Loster, Aneta Wieczorek, and Wojciech Ryniewicz "Mycological Analysis of the Oral Cavity of Patients Using Acrylic Removable Dentures" *Gastroenterol Res Pract.* 2012; 2012: 951572. Published online 2012 April 8. PMID: PMC3328923
9. Takakura S, Fujihara N, Saito T, Kudo T, Inuma Y, Ichihara S, et al. Clinical factors associated with fluconazole resistance and short-term survival in patients with *Candida* bloodstream infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2004 May;23(5):380-8
10. Díaz M.M. -López1, Oliveros O. A. -Garay y Díaz Orozco O. - Análisis SSCP (ITS2, *ERG11*) de aislamientos clínicos de *Candida* spp. de cavidad oral en pacientes oncológicos *Rev Iberoam Micol* 2004; 21: 182-186 [Citado 3 de junio del 2012] disponible en: <http://www.reviberoammicol.com/2004-21/182186.pdf>
11. Sanglard D, Ischer F, Calabrese D, Majcherczyk PA, Bille J. The ATP binding cassette transporter gene *CgCDR1* from *Candida glabrata* is involved in the resistance of clinical isolates to azole antifungal agents. *Antimicrob Agents Chemother.* 1999 Nov;43(11):2753-65.
12. Pfaller MA, Diekema D.J. Minireview: Role of Sentinel surveillance of Candidemia: Trends in species distribution and antifungal susceptibility, *Journal of Clinical microbiology* 2002 Oct;40(10): 3551-3557.
13. Baddley JW, Patel M, Jones M, Cloud G, Smith AC, Moser SA. Utility of real-time antifungal susceptibility testing for fluconazole in the treatment of candidemia. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2004 Oct;50(2):119-24
14. Almirante B, Rodríguez D, Park BJ, Cuenca-Estrella M, Planes AM, Almela M, et al. Epidemiology and predictors of Mortality in cases of *Candida* Bloodstream infection: Results for population Based Surveillance, Barcelona, Spain, from 2002 to 2003. *J Clin Microbiol.* 2005. Vol. 43. No. 4. p: 1829 – 1835.
15. Brion LP, Uko SE, Goldman DL. Risk of resistance associated with fluconazole prophylaxis: Systematic review. *Journal of Infection* 2007; 54:521- 529.
16. Garnacho-Montero J, Díaz-Martín A, García-Cabrera E, Ruiz Pérez de Pipaón M, Hernández-Caballero C, Aznar-Martín J, et al. Risk factors for fluconazole-resistant candidemia. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Aug;54(8):3149-54.

17. Klevay M.J, Ernst EJ, Hollanbaugh JL, Miller JG, Pfaller MA, Diekema DJ. Therapy and outcome of *Candida glabrata* versus *Candida albicans* bloodstream infection. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2008; 60: 273–277.
18. Boletín Memoria Bodas de Plata del Proyecto Sucre Ciudad Universitaria. Sucre – 2008
19. Instituto Nacional de Estadísticas de Bolivia (INE) “Proyección del INE al 2008” [Citado 3 de junio del 2012] disponible en: www.ine.gov.bo
20. FAM. Federación de asociaciones Municipales. “Servicio de Información y Análisis de la gestión Municipal, Adulto Mayor y Renta Dignidad” Boletín Informativo N°3 Marzo La Paz, 2008.
21. Boletín Memoria Bodas de Plata del Proyecto Sucre Ciudad Universitaria. Sucre - 2008
22. Prefectura de Chuquisaca 2004a: “Plan Departamental de Desarrollo Económico y Social 2005-2009”, Prefectura de Chuquisaca, Sucre, 2004
23. Lindhe J. *Periodontologia Clinica*. 2a. ed. Médica Panamericana S.A., Buenos Aires; 1992.
24. Delgado W. Aguirre J. M. Micosis orales en la era del sida *Iberoam Micol* 1997;14:14-22.
25. Aguirre Urizar J.M. Candidiasis orales *Rev Iberoam Micol* 2002 19:17-21 <http://www.reviberoammicol.com/2002-19/017021.pdf>
26. Ceballos Salobreña A, Delgado Azareño W, Gándara Vila P. Micosis bucales. En: Ceballos Salobreña A, Bullón Fernández P, Gándara Rey JM, Chimenos Küstner E, Blanco Carrión A, Martínez-Sahuquillo Márquez A, García García A. *Medicina Bucal Práctica*. Santiago de Compostela: Danú, 2000:144-5.
27. Roitt, I.: *Inmunología. Fundamentos*. 9ª Edición. Editorial Médica Panamericana. Argentina, 1998. Delves, P. J.; Roitt, I.: The Immune System. Second of two parts. In: Review Articles. *Advances in Immunology*. *New Engl J Med* 343: 108-117, 2000.
28. Leigh JE, Steele C, Wormley F, Fidel PL Jr. Salivary cytokine profiles in the immunocompetent individual with *Candida* associated denture stomatitis. *Oral Microbiol Immunol* 2002;17:311-4.
29. Budtz-Jorgensen E. *Candida* - associated denture stomatitis and angular cheilitis. Samaranayake LP, MacFarlane T. En: Samaranayake LP, MacFarlane TW. *Oral candidosis*. London: Wright 1990:cap 9.

30. Baillie G.S, Douglas L.J. Matrix polymers of *Candida* biofilms and their possible role in biofilm resistance to antifungal agents. *J Antimicrob Chemother* 2000;46:397-3.
31. Chandra J, Mukherjee PK, Leidich SD y cols. Antifungal resistance of candidal biofilms formed on denture acrylic in vitro. *J Dent Res* 2001;80:903-8. Mukherjee PK, Chandra J, Kuhn DM, Ghannoum MA. Mechanism of Fluconazol resistance in *Candida albicans* biofilms: phase specific role of efflux pumps and membrane sterols. *Infection and Immunity* 2003;71:4333-40
32. Pires F.R, Santos EB, Bonan PR, De Almeida OP, Lopes MA. Denture stomatitis and salivary *Candida* in brazilian edentulous patients. *J Oral Rehabil* 2002;29:1115-9.
33. Nikawa H, Jin C, Makihira S, Egusa H, Hamada T, Lumagai H. Biofilm formation of *Candida albicans* on the surfaces of deteriorated soft denture lining materials caused by denture cleansers in vitro. *J Oral Rehabil* 2003;30:243-50
34. Porta J. Asepsia en el laboratorio. En: Porta J. Asepsia en odontología. Barcelona: COEC 1994:44 .
35. Ellepola A.N, Samaranayake LP. Uso de la Clorhexidina. 2001
36. Monsenego P. Presence of microorganisms on the fitting denture complete surface: study in vivo. *J Oral Rehabil* 2000;27:708-13.
37. Villanueva Reyes J. y Arenas R. "Candidiasis mucocutanea. Revista Mexicana de Micología, diciembre vol 025 Sociedad Mexicana de Micología Xsalapa, México pp91-104" [Citado 6 de agosto del 2012] disponible en: <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/883/88302515.pdf>
38. Odds *Cándida* and Candidosis. Segunda edición Editorial Bailliere Tindall. Londres 468p 1998
39. Linares, M solis f Identificación de levaduras. Revista Iberoamericana de Micología ISBN 84-607-3050-6 [Citado 6 de agosto del 2012] disponible en: [Http://www. Guía.reviberoammicol.com/capitulo11.pdf](Http://www.Guía.reviberoammicol.com/capitulo11.pdf).2000
40. Romero, J. efecto antagónico de *C. Rugosa* sobre micoorganismos contaminantes de la uchuva nativa *Physalis peruviana*. Microbiología Industrial Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias Bogota p88, 2002
41. Burnett G. Microbiología y Enfermedades Infecciosas de la Boca T-1,2,3,4 Manual Edit. Ciencia y Tecnica Mexico D.F, 1997
42. Negróni M. Microbiología Estomatológica 1ra. ed, Buenos Aires: Panamericana; 2001

43. Jawetz E, Melnick JL y Adelberg EA. Manual de Microbiología Médica. 12a. ed. México D.F: El Manual Moderno S.A.; 1992
44. Linares Sicilia M. J. y Francisco Solís Cuesta Identificación de levaduras 2001
Revista Iberoamericana de Micología - ISBN: 84-607-3050-6
45. Laboratorios BRITANIA. Información Técnica Seleccionada sobre Productos para Microbiología“. Buenos Aires. 2010 P:78
46. Koneman E. (2008) Diagnóstico Microbiológico 6ta. Ed. Buenos Aires Edit. Panamericana.
47. Díaz R., Gamazo C. e López I. – Goñi. Manual Práctico de Microbiología. 2da. Edición Editorial MASSON. Barcelona, 1999.: P. 78
48. Quindós G, Ribacoba L, Contreras I, Aguirre JM. Tratamiento de las candidiasis orofaríngeas. Rev Iberoam Micol 1996; 13(Supl.1): S11-S15. Mújica MT,
49. Baca D, Drexler C, Cullen E. Obstructive laryngotracheitis secondary to gentian violet exposure. Clin Pediatr 2001; 40:233-235].
50. Ellepola AN, Samaranayake LP. Adjunctive use of chlorhexidine in oral candidiasis: minireview. Oral Dis 2001; 7: 211-216.].
51. Bidart H. T. Rev Chil Infect 2004; 21 (Supl 1): S13-S19 Rol de voriconazol y caspofungina en terapia Antifúngica 13 – 19 Rev Chil Infect 2004; 21 (Supl 1): S13-S19
52. Casalnuovo I.A, Di Francesco P, Garaci E. Fluconazole resistance in *Candida albicans*: a review of mechanisms. Eur Rev Med Pharmacol Sci. 2004; 8: 69 – 77.
53. . Ferrari S, Ischer F, Calabrese D, Posteraro D, Sanguinetti M, Fadda G et al. Gain of Function Mutations in CgPDR1 of *Candida glabrata* Not Only Mediate Antifungal Resistance but Also Enhance Virulence. PLoS Pathogens 2009 Jan; 5(1):1-17., Vol 5, Issue 1. e1000268. Pg: 1-17.
54. Martínez M, López-Ribot JL, Kirkpatrick WR, Bachmann SP, Perea S, Ruesga MT, et al. Heterogeneous mechanisms of azole resistance in *Candida albicans* clinical isolates from an HIV-infected patient on continuous fluconazole therapy for oropharyngeal candidosis. J Antimicrob Chemother. 2002 Mar;49(3):515-24.
55. Procop GW, Roberts GD. Emerging Fungal Diseases: The Importance of the Host. Clin Lab Med 2004; 24: 691-719.
56. Tortorano, A. M., Pirigitano, A., Biraghi, E. y Viviani, M. A. 2005. The European confederation of medical mycology survey of candidemia in Italy: in vitro susceptibility of 375 *Candida albicans* isolates and biofilm production. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 56:777-779.

57. Perlin, D. S. 2009. Antifungal drug resistance: do molecular methods provide a way forward?. *Current Opinion in Infectious Diseases*. 22:568-573.
58. Oliver, B. G., Song, J. L., Choiniere, J. H. y White, T. 2007. Cis-Actings Elements within the *Candida albicans* ERG11 promoter mediate the azole response through Transcription factor Upc2p. *Eukaryotic Cell*. 6(12):2231-2239.5.
59. Sanglard, D., Ischer, F., Parkinson, T., Falconer, D. y Bille, J. 2003. *Candida albicans* Mutations in the Ergosterol Biosynthetic Pathway and Resistance to Several Antifungal Agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 47:2404-2412
60. Coste, A., Turner, V., Ischer, F., Morschhäuser, J., Forche, A. y Selmecki, A. 2006. A mutation in Tac1p, a transcription factor regulating CDR1 and CDR2, is 75 coupled with loss of heterozygosity at chromosome 5 mediate antifungal resistance in *Candida albicans*. *Genetics*. 172:2139-2156.
61. Harry, J. B., Oliver, B. G., Song, J. L., Silver, P. M., Little, J. T., Choiniere, J. y White, T. 2005. Drug- Induced regulation of the MDR1 promoter in *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 49 (7):2785-2792.
62. Nett, J., Lincoln, L., Marchillo, K., Massey, R., Holoyda, K., Hoff, B., VanHandel, M. y Andes, D. 2007. Putative Role of β -1,3 Glucans in *Candida albicans* biofilms resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 51 (2):510-520.
63. Cowen, L. E. 2008. The evolution of fungal drug resistance: modulating the trajectory from genotype to phenotype. *Nature Review*. 6:187-198.
64. Marie, C. y White, T. C. 2009. Genetic Basis of Antifungal Drug Resistance. *Genomics and Pathogenesis*. 3:163-169.
65. Silva MRR, et al. Evaluation of Etest and Macrodilution Broth Method for Antifungal Susceptibility Testing of *Candida* sp Strains Isolated from Oral Cavities of Aids Patients. *Rev. Inst. Med. trop. S. Paulo* 2002; 44(3): 121-125.
66. Tapia C, León E, Palavecino E. Susceptibilidad Antifúngica de Levaduras Mediante Etest®. Comparación de 3 Medios. *Rev Méd Chile* 2003; 131(3).
67. Cantón E, Martín E, Espinel-Ingroff A. Pruebas Estandarizadas para el Estudio de la Sensibilidad a los Antifúngicos. *Rev Iberoam Micol* 2001; ISBN: 84-607-3050-6.
68. Méndez J, Herrera M. Métodos de Susceptibilidad Antifúngica. Revisión Metodológica. *Rev Méd Chile* 2001; 36 (1-2)
69. Martín E. Métodos de Estudio de la Sensibilidad in vitro de Levaduras. *Soc Esp Quimioter* 2000; 100p.

70. Cantón E, Martín E, Espinel-Ingroff A. Pruebas Estandarizadas para el Estudio de la Sensibilidad a los Antifúngicos. Rev Iberoam Micol 2001; ISBN: 84-607-3050-6
71. Procop GW, Roberts GD. Emerging Fungal Diseases: The Importance of the Host. Clin Lab Med 2004; 24: 691-719.
72. White, T. C., Marr, K. A. y Bowden, R. A. 1998. Clinical, cellular, and molecular factors that contribute to antifungal drug resistance. Clinical Microbiology. 11(2):382-402.
73. Sanglard D, Ischer F, Monod M, Bille J. Susceptibilities of *Candida albicans* multidrug transporter mutants to various antifungal agents and other metabolic inhibitors. Antimicrob Agents Chemother 1996; 10: 2300-2305
74. Buitrón García-Figueroa, R.* Javier Araiza-Santibáñez,** Erich Basurto-Kuba,*** Alexandro Bonifaz-Trujillo***Candida glabrata*: un oportunista emergente en vulvovaginitis Cir Ciruj 2009;77:455-460 Volumen 77, No. 6, Noviembre-Diciembre 2009 [Citado 1 de junio del 2012] disponible en: <http://circiruj.edilaser.net/es/pdf/7706/2009-77-06-455-460.pdf>
75. Bassetti M, Righi E, Costa A et al. Epidemiological trends in nosocomial candidemia in intensive care. BMC Infect Dis 2006; 6: 21-6.
76. Rex JH, Walsh TJ, Sobel JD et al. Practice guidelines for the treatment of candidiasis. Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis 2000; 30: 662-78
77. Leigh J.E, Steele C, Wormley F, Fidel PL Jr. Salivary cytokine profiles in the immunocompetent individual with *Candida* associated denture stomatitis. Oral Microbiol Immunol 2002;17:311-4
78. Sullivan D, et al. *Candida dubliniensis* sp. nov.: Phenotypic and Molecular Characterization of a Novel Species Associated with Oral Candidosis in HIV-infected Individuals. Microbiology 1995; 141: 1507-1521
79. Martinez M. Replacement of *Candida albicans* with *C. dubliniensis* in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients with Oropharyngeal Candidiasis Treated with Fluconazole. J Clin Microbiol 2002; 40(9): 3135–3139
80. Tapia, C. Susceptibilidad Antifúngica de *Candida albicans* Recuperadas de Pacientes con SIDA y Candidiasis Orofaringea y Esofágica. Experiencia con Etest. Rev Med Chile 2003; 131(5).
81. Carney DE, Meguid MM. Current concepts in nutritional assessment. Arch Surg 2002; 137: 42-5.

82. Wilcox C, Monkemuller K. Review Articles: the therapy of gastrointestinal infections associated with the acquired immunodeficiency syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11:425-443
83. Sanglard D, Ischer F, Monod M, Bille J. Cloning of *Candida albicans* genes conferring resistance to azole antifungal agents: characterization of CDR2, a new multidrug ABC transporter gene. *Microbiology* 1997; 143: 405-416.
84. Nett, J., Lincoln, L., Marchillo, K., Massey, R., Holoyda, K., Hoff, B., VanHandel, M. y Andes, D. 2007. Putative Role of β -1,3 Glucans in *Candida albicans* biofilms resistance. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 51 (2):510- 520.
85. Wingard J.R, Merz W.G, Rinaldi M.G, Miller CB, Karp J.E, SaraL R. Association of *Torulopsis glabrata* infections with fluconazole prophylaxis in neutropenic bone marrow transplant patients. *Antimicrob Agents Chemother* 1993; 37:1847-1849.
86. Buitrón R. et al Redalyc *Candida glabrata*:un oportunista emergente en vulvovaginitis **Redalyc Sistema de Información Científica** Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y PortugalSistema de Información Científica Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal *Cir Ciruj* 2009;77:455-460 Volumen 77, No. 6, Noviembre-Diciembre 2009
87. Gutiérrez-Martínez MJ.* Estudio in vitro de antimicóticos contra cepas de *Candida* aisladas de pacientes del Hospital General de México OD <http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2012/rmd122b.pdf>fríguez-Piñeyro,** Alexandro Bonifaz* *Dermatol Rev Mex* 2012;56(2):93-101
88. Josep M. Torres-Rodríguez, Yolanda Morera y Olga López *Candida glabrata*: UN Patógeno emergente Grup de Recerca en Micologia Experimental Clínica. Instituto Municipal de Investigación Médica. Instituto Municipal de Asistencia Sanitaria. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona [Citado 1 de junio del 2012] disponible en: <http://www.seimc.org/control/revisiones/micologia/cglabra.pdf>
89. Pemán J. et. al Actividad *in vitro* del voriconazol frente a levaduras y algas con los nuevos puntos de corte del patrón de resistencia Servicio de Microbiología y Unidades de 2Microbiología Experimental y 3Enfermedades Infecciosas, Hospital Universitario La Fe, Avda. Campanar 21, 46009 Valencia; 4Departamento Médico, *Pfizer, Madrid Rev Esp Quimioterap*, Marzo 2006; Vol.19 (Nº 1): 21-33 2006 Prous Science, S.A.- Sociedad Española de Quimioterapia <http://www.seq.es/seq/0214-3429/19/1/Peman-J.pdf>

90. Pérez J.L., Remedios Gunab, Nieves Ortab y Concepción Gimeno Servicios de Microbiología, aHospital Universitario Son Dureta, Palma de Mallorca, ybHospital Clínico Universitario de Valencia [Citado 1 de junio del 2012] disponible en: <http://www.seimc.org/control/revisiones/micologia/Neoazoles.pdf>
91. Tapia C. Actualización en pruebas de susceptibilidad antifúngica. Impresa ISSN 0716-1018 Rev. chil. infectol. v.26 n.2 Santiago abr. 2009; 26(2): 144-150 [Citado 1 de junio del 2012] disponible en: <file:///D:/Documentos/TMAESTRIAFARMACO/internet/Revista%20chilena%20de%20infectolog%C3%ADa%20cortessmmfungigrama.htm>
92. Ministerio de salud y Deportes. Guía Clínica y formulario para el tratamiento de enfermedades infecciosas en Bolivia Hermenca Lta. La Paz . 2005
93. Finquelievich J L, Jewtuchowicz V. y Iovannitti C. Prevalencia de *Cándida albicans* y *Cándida* no albicans en diferentes muestras clínicas. Periodo 1999-2001. Revista argentina de microbiología versión On-line ISSN 1851-7617 Buenos Aires julio/septiembre , 2004
94. Quindós G. Nuevas perspectivas en la terapia antifúngica. Gac Med Bilbao 2001; 98: E20-E23.]:El Tratamiento de la Candidiasis Oral <http://www.thebody.com/content/art5614.html>
95. Burnett G., Manual de Microbiología y Enfermedades Infecciosas de la .Boca. 1ra. Reimpresión. México D.F: Limusa S.A.1987
96. Carranza F. Periodontología Clínica Ed. 9na. Mexico D. F.: Mc Graw Hill. 2004.
97. Harrigan W. F. y Mc Cance Margaret E. Métodos de Laboratorio en Microbiología". 1a. ed. León: Academia; 1983.
98. Harrington Dean J and Russell Roy R. B. Identification and Characterisation Extracellular Proteases of *Streptococcus Mutans*. FEMS Microbiol. Lett. 1994, vol. 121.
99. Haggard K. Arvelo B. De Genaro P. Recomendaciones para la limpieza de prótesis removibles. Caracas: Revista Venezuela Odontológica. 2002;55
100. Lennette, Balows, Hausler y Shadomy. Manual de Microbiología. 4a. ed. Buenos Aires: Médica Panamericana,; 1991.
101. Miranda M. Farmacognosia y productos naturales. Manual de Práctica, Facultad de Farmacia, Universidad de la Habana. Habana; 2000
102. Pelczar, M.J, Reid R.D. y Chan ECS. Microbiología. Bologna: Zanichelli;2000

- 103.** Duarte I. y Herrera L. Concentración Mínima Inhibitoria de Anfotericina B contra *Cándida albicans*". Revista Médica del Hospital Nacional de Niños Dr. Carlos Sáenz Herrera. Impresa ISSN 1017- 8546. Costa Rica v.30 n1-2 San José 1995. [Citado 3 de febrero del 2013] disponible en: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?pid=S1017-85461995000100008&script=sci_arttext

ANEXOS

ANEXO N° 1

Sucre, 24 julio de 2012

CONCENTIMIENTO INFORMADO

Directora del “Hogar 25 de Mayo”

Solicitó su autorización y consentimiento para realizar la toma de muestras de los tejidos gingivales para cultivo micológico - fungigrama y muestras sanguíneas (glicemia, albuminemia). Por otro lado se hará la desinfección de las prótesis dentales pertenecientes a los adultos mayores que residen en el “Hogar 25 de Mayo”, como parte del estudio de investigación denominado **“FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A LA RESISTENCIA DE *Cándida spp.* A FLUCONAZOL Y VORICONAZOL UTILIZADOS EN EL TRATAMIENTO DE CANDIDIASIS SUBPROTESICA, EN ADULTOS MAYORES PORTADORES DE PROTESIS DENTAL QUE RESIDEN EN EL HOGAR 25 MAYO,SUCRE 2012“**

El objetivo del estudio es determinar la resistencia de la *Cándida spp* al fluconazol y voriconazol, esta levadura hongo es productora de candidiasis subprotésica en pacientes que portan prótesis dentales. El reporte de los cultivos microbiológicos será entregado al profesional odontólogo de forma escrita para fines de tratamiento.

Los resultados obtenidos serán manejados confidencialmente

Sin más que expresar le agradezco de antemano su colaboración, comprensión y apoyo.

Atte.

Dra. María Luisa De la Cruz Claire
Investigador

Apoderado de los Adultos Mayores
Apoderado de los Adultos Mayores
Directora del “Hogar 25 de Mayo”

ANEXO Nº 2

FICHAS ODONTOLÓGICA

Universidad andina Simon Bolivar Maestria de Farmacología Básica y Clínica									
FACTORES DE RIESGO ASOCIADOS A RESISTENCIA DEL FLUCONAZOL E ITRACONAZOL EN EL TRATAMIENTO DE CANDIDIASIS ORAL EN ADULTOS MAYORES PORTADORES DE PROTESIS DENTAL QUE RESIDEN EN ASILO 25 MAYO, POR MÉTODOS IN VITRO.SUCRE 2011									
FICHA ODONTOLÓGICA									
Datos del paciente									
Nombre del paciente									
Edad	Fecha 1º Revisión:								
Grado de desnutrición	Severa								
	Moderada								
	Leve								
Antecedentes de tratamientos previos con antimicrobianos	Tiene								
	No tiene								
Grado de candidiasis	Grado I								
	Grado II								
	Grado III								
	Ausencia								
Pruebas de Susceptibilidad									
Germen identificado	<i>C. albicans</i>								
	<i>C. krusei,</i>								
	<i>C. tropicalis,</i>								
	<i>C. parapsilosis</i>								
	<i>C. glabrata</i>								
Resultados de las pruebas de susceptibilidad	Sensible								
	Sensible dosis dependiente								
	Resistente								
.Pruebas de susceptibilidad CIM.....SensibleResistente									
HABITOS HIGIÉNICOS APLICADOS EN PROTESIS.....Bueno.....Regular.....Malo.....Pésimo									
ANTECEDENTES DE DIABETES.....SI.....NO.....									
NEOPLASIAS.....SI.....NO.....									
ANEMIA.....SI.....NO.....									
OBSERVACIONES TRATAMIENTO SEGÚN PRUEBAS DE LABORATORIO									
.....									
.....									

ANEXOS N °4
BASE DE DATOS.

PERFIL DE SUSCEPTIBILIDAD DEL GENERO CANDIDA														
Factores asociados a la presencia de resistencia de Candida spp a los azoles										factores asociados al perfil de sensibilidad a los antimicoticos dependientes del microorganismo		CIM		FUNGIGRAMA
Nº	Edad	Grado desnutrición	Presencia Desnutrición	Presencia Anemia	Presencia de Diabetes	Presencia de neoplasias	Higiene	Presencia de Candidiasis	Grado de candidiasis	Especie Candida	Nº Candidas aisladas	RF	RV	F FLU
1	70	0	A	A	A	A	B	P	1	K	1	R	S	R
2	86	1	P	A	A	A	B	A	0	K	1	S	S	SSD
3	82	0	A	A	A	A	R	P	1	K	1	R	S	R
4	94	1	P	A	A	A	M	P	1	G	1	S	S	SSD
5	52	0	A	A	A	A	R	P	1	A	1	S	S	S
6	65	0	A	A	A	A	R	P	1	A	1	S	S	S
7	70	0	A	A	A	A	B	P	1	P	1	S	S	S
8	77	0	A	A	A	A	P	P	1	A	1	R	S	R
9	<70	0	A	A	A	A	B	A	0	A	1	R	S	R
10	85	2	P	P	A	P	B	P	2	K	1	R	S	R
11	81	1	P	A	A	A	B	A	0	K	1	R	S	R
12	82	0	A	A	A	A	B	A	0					No se detectaron de candidas en la boca
13	<70	0	A	A	A	A	R	P	1	K	1	R	S	R
14	<70	0	A	A	A	A	R	P	1	A	1	S	S	S
15	<70	0	A	A	A	A	B	A	0					No se detectaron de candidas en la boca
16	83	0	A	A	A	A	B	P	1	T	1	S	S	S
17	<70	0	A	A	A	A	R	P	2	A	1	S	S	S
18	89	2	P	A	A	A	R	P	2	P	1	S	S	S
19	87	1	P	A	A	A	M	P	2	P	1	S	S	S
20	80	0	A	A	A	A	B	A	0	P	1	S	S	S

21	83	1	P	A	P	A	B	A	0	K	1	R	S	R
22	83	0	A	A	A	A	B	P	1	A	2	S	S	S
										P		S	S	S
23	80	1	P	A	A	A	B	P	1	A	1	R	S	R
24	<70	0	A	A	A	A	M	P	2	K	1	R	S	R
25	85	1	P	A	A	A	B	P	1	A	1	S	S	S
26	92	3	P	A	A	A	R	P	2	A	1	R	S	R
27	71	1	P	P	A	A	B	A	0	T	1	R	S	R
28	73	1	P	A	A	A	R	P	1	K	1	R	S	R
29	91	1	P	A	A	A	R	P	1	A	1	R	S	R
30	85	1	P	A	D	A	M	P	1	T	1	S	S	S
31	63	1	P	A	P	A	M	P	2	G	1	S	S	SSD
32	78	0	A	A	A	A	R	P	1	A	1	S	S	S
33	70	1	P	A	A	A	B	P	1	A	1	S	S	S
34	85	3	P	A	A	A	R	P	1	A	1	S	S	S
35	93	0	A	A	A	A	R	P	1	A	1	S	S	S
36	80	1	P	A	A	A	B	A	0	P	1	S	S	S
37	70	1	P	A	A	A	R	P	1	A	1	S	S	S
38	80	1	P	A	A	A	R	P	1	T	2	S	S	S
										A		S	S	S
39	88	0	A	A	A	A	R	P	1	A	1	S	S	S
40	85	0	A	A	P	A	B	A	0					No se detectaron de candidas en la boca
41	84	1	P	P	A	A	M	P	1	A	1	S	S	S
42	89	1	P	P	A	A	B	P	1	A	1	S	S	S
43	84	1	P	A	A	A	M	P	1	K	1	R	S	R
44	91	0	A	A	A	A	M	P	3	A	2	S	S	S
										K		R	S	R
45	<70	0	A	P	A	A	B	A	0	T	1	S	S	S
46	87	1	A	P	A	A	M	P	3	K	1	R	S	R
47	<70	0	A	A	A	A	B	P	1	A	1	S	S	S
48	<70	0	A	A	A	A	R	P	1	G	1	S	S	SSD
49	<70	0	A	A	A	A	M	P	1	G	1	R	S	R
50	82	1	P	A	A	A	R	P	1	A	1	R	S	R
51	98	1	P	A	A	A	M	P	1	T	1	S	S	S
52	76	0	A	A	A	A	M	P	2	K	1	R	S	R

NEXO N° 5TABLAS DE CONTINGENCIA: TABLAS 2XN SIMPLESSEXO**Masculino**

-----	Enfermos	Sanos	Total
-----	-----	-----	-----
Expuestos	4	4	8
No expuestos	20	24	44
-----	-----	-----	-----
Total	24	28	52

-----	Estimación	IC (95,0%)
-----	-----	-----
Prevalencia de la enfermedad		
-----	-----	-----
En expuestos	0,500000	-
-		
En no expuestos	0,454545	-
-		
Razón de prevalencias	1,100000	0,511960
2,363468 (Katz)		
-----	-----	-----

-----	Estimación	IC (95,0%)
-----	-----	-----
Prevalencia de exposición		
-----	-----	-----
En enfermos	0,166667	-
-		
En no enfermos	0,142857	-
-		
Razón de prevalencias	1,166667	0,326278
4,171630 (Katz)		
-----	-----	-----

-----	OR	IC (95,0%)	
-----	-----	-----	-----
1,200000	0,265728	5,419065	(Woolf)
	0,288309	4,999542	(Cornfield)

-----	Estadístico	Valor p
-----	-----	-----
Prueba Ji-cuadrado de asociación		
-----	-----	-----
Sin corrección	0,0563	0,8125
Corrección de Yates	0,0220	0,8821

-----	Valor p
-----	-----
Prueba exacta de Fisher	
-----	-----
Unilateral	0,5556
Bilateral	1,0000

Femenino

-----	Enfermos	Sanos	Total
-----	-----	-----	-----
Expuestos	20	24	44
No expuestos	4	4	8
-----	-----	-----	-----
Total	24	28	52

-----	Estimación
-----	-----
Prevalencia de la enfermedad	
IC (95,0%)	

-----	-----	-----	---

En expuestos	0,454545	-	
-			
En no expuestos	0,500000	-	
-			
Razón de prevalencias 1,953279 (Katz)	0,909091	0,423107	
-----	-----	-----	---

Prevalencia de exposición	Estimación	IC (95,0%)	
-----	-----	-----	---

En enfermos	0,833333	-	
-			
En no enfermos	0,857143	-	
-			
Razón de prevalencias 1,228863 (Katz)	0,972222	0,769179	
-----	-----	-----	---

OR	IC (95,0%)		
-----	-----	-----	
0,833333	0,184534	3,763240	(Woolf)
	0,200018	3,468500	(Cornfield)
Prueba Ji-cuadrado de asociación	Estadístico	Valor p	
-----	-----	-----	
Sin corrección	0,0563	0,8125	
Corrección de Yates	0,0220	0,8821	
Prueba exacta de Fisher	Valor p		
-----	-----		
Unilateral	0,5556		
	Bilateral		

EDAD

Tipo de estudio : Transversal
 Niveles de exposición: 4
 Nivel de confianza : 95,0%

Tabla	1 >80 ^a	2 76 - 80	3 71-75	4 <70 a	
Total					
-----	-----	-----	-----	-----	---
Enfermos	12	3	3	6	
24					
Sanos	14	5	0	9	
28					
-----	-----	-----	-----	-----	---
Total	26	8	3	15	
52					

RAZÓN DE PREVALENCIAS (RP)

Nivel de exposición	Prevalencia
-----	-----
Nivel 1	0,4615
Nivel 2	0,3750
Nivel 3	1,0000
Nivel 4	0,4000

Nivel de exposición	RP	IC (95,0%)		
-----	-----	-----	-----	
Ref.-> Nivel +80	1,0000	-	-	
Nivel 75'76	0,8125	0,3030	2,1784	(Katz)
Nivel 71a75	2,1667	1,4305	3,2817	(Katz)
Nivel -70	0,8667	0,4110	1,8274	(Katz)

PRUEBA DE HOMOGENEIDAD ENTRE NIVELES

Ji-cuadrado	gl	Valor p
-----	-----	-----
3,8933	3	0,2732

PRUEBA DE TENDENCIA LINEAL

Ji-cuadrado	gl	Valor p
-----	-----	-----
0,0024	1	0,9610

ESPECIE DE *Cándida spp*

Tipo de estudio : Transversal
 Niveles de exposición: 4
 Nivel de confianza : 95,0%

Tabla	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4
Total	C. glabrata	c. albicans	c. parasilopsis	C. tropicalis
Enfermos	14	6	1	2
23				
Sanos	1	18	4	5
28				
Total	15	24	5	7
51				

RAZÓN DE PREVALENCIAS (RP)

Nivel de exposición	Prevalencia
Nivel 1	0,9333
Nivel 2	0,2500
Nivel 3	0,2000
Nivel 4	0,2857

Nivel de exposición	RP	IC (95,0%)		
Ref.-> Nivel 1	1,0000	-	-	
Nivel 2	0,2679	0,1322	0,5427	(Katz)
Nivel 3	0,2143	0,0369	1,2434	(Katz)
Nivel 4	0,3061	0,0942	0,9953	(Katz)

PRUEBA DE HOMOGENEIDAD ENTRE NIVELES

Ji-cuadrado	gl	Valor p
19,6617	3	0,0002

PRUEBA DE TENDENCIA LINEAL

Ji-cuadrado	gl	Valor p
9,6922	1	0,0019

GRADO DE CANDIDIASIS

Tipo de estudio : Transversal
 Niveles de exposición: 4
 Nivel de confianza : 95,0%

Tabla	Nivel 1 Colonizados	Nivel 2 Grado 1	Nivel 3 Grado II	Nivel 4 Grado III	
Total					
-----	-----	-----	-----	-----	---
Enfermos 24	5	12	5	2	
Sanos 28	3	21	3	1	
-----	-----	-----	-----	-----	---
Total 52	8	33	8	3	

RAZÓN DE PREVALENCIAS (RP)

Nivel de exposición	Prevalencia
-----	-----
Nivel 1	0,6250
Nivel 2	0,3636
Nivel 3	0,6250
Nivel 4	0,6667

Nivel de exposición	RP	IC (95,0%)		
-----	-----	-----	-----	
Nivel colon	0,9375	0,3577	2,4571	(Katz)
Nivel 2	0,5455	0,2177	1,3669	(Katz)
Nivel 3	0,9375	0,3577	2,4571	(Katz)
Ref.-> Nivel 4	1,0000	-	-	

PRUEBA DE HOMOGENEIDAD ENTRE NIVELES

Ji-cuadrado	gl	Valor p
-----	-----	-----
3,4336	3	0,3295

PRUEBA DE TENDENCIA LINEAL

Ji-cuadrado	gl	Valor p
-----	-----	-----
0,2189	1	0,6399

HABITOS HIGIÉNICOS

Tipo de estudio : Transversal

Niveles de exposición: 4

Nivel de confianza : 95,0%

Tabla	Nivel 1	Nivel 2	Nivel 3	Nivel 4	
Total	Pésima	mala	regular	buena	---
-----	-----	-----	-----	-----	---

Enfermos 24	1	8	6	9	
Sanos 28	5	0	13	10	
-----	-----	-----	-----	-----	---

Total 52	6	8	19	19	

RAZÓN DE PREVALENCIAS (RP)

Nivel de exposición	Prevalencia
-----	-----
P Nivel 1	0,1667
M Nivel 2	1,0000
R Nivel 3	0,3158
B Nivel 4	0,4737

Nivel de exposición	RP	IC (95,0%)		
-----	-----	-----	-----	
Ref.-> P Nivel 1	1,0000	-	-	
M Nivel 2	6,0000	1,0026	35,9078	(Katz)
R Nivel 3	1,8947	0,2812	12,7658	(Katz)
B Nivel 4	2,8421	0,4465	18,0917	(Katz)

PRUEBA DE HOMOGENEIDAD ENTRE NIVELES

Ji-cuadrado	gl	Valor p
-----	-----	-----
12,8166	3	0,0051

PRUEBA DE TENDENCIA LINEAL

Ji-cuadrado	gl	Valor p
-----	-----	-----
0,0224	1	0,8809

GRADOS DE DESNUTRICIÓN

Tipo de estudio : Transversal
 Niveles de exposición: 4
 Nivel de confianza : 95,0%

Tabla	Total	Nivel 1 grado III	Nivel 2 gradoII	Nivel 3 gradoI	Nivel 4 Ausencia	
Enfermos 24		1	1	12	10	
Sanos 28		1	1	11	15	
Total 52		2	2	23	25	

RAZÓN DE PREVALENCIAS (RP)

Nivel de exposición	Prevalencia
3 Nivel 1	0,5000
2 Nivel 2	0,5000
1 Nivel 3	0,5217
A Nivel 4	0,4000

Nivel de exposición	RP	IC (95,0%)		
Ref.-> 3 Nivel 1	1,0000	-	-	
2 Nivel 2	1,0000	0,1409	7,0991	(Katz)
1 Nivel 3	1,0435	0,2472	4,4046	(Katz)
A Nivel 4	0,8000	0,1845	3,4679	(Katz)

PRUEBA DE HOMOGENEIDAD ENTRE NIVELES

Ji-cuadrado	gl	Valor p
0,7259	3	0,8671

PRUEBA DE TENDENCIA LINEAL

Ji-cuadrado	gl	Valor p
0,4403	1	0,5070

ANEMIA**Presencia**

	Enfermos	Sanos	Total		
-----	-----	-----	-----		
Expuestos	3	3	6		
No expuestos	21	25	46		
-----	-----	-----	-----		
Total	24	28	52		
Prevalencia de la enfermedad			Estimación	IC (95,0%)	
-----			-----	-----	-----
En expuestos			0,500000	-	
-					
En no expuestos			0,456522	-	
-					
Razón de prevalencias			1,095238	0,463447	
2,588314 (Katz)					
-----			-----	-----	-----

Prevalencia de exposición			Estimación	IC (95,0%)	
-----			-----	-----	-----
En enfermos			0,125000	-	
-					
En no enfermos			0,107143	-	
-					
Razón de prevalencias			1,166667	0,259133	
5,252562 (Katz)					
-----			-----	-----	-----

	OR	IC (95,0%)			
-----	-----	-----	-----		
1,190476	0,216998	6,531096	(Woolf)		
	0,246071	5,763971	(Cornfield)		
Prueba Ji-cuadrado de asociación			Estadístico	Valor p	
-----			-----	-----	-----
Sin corrección			0,0404	0,8408	
Corrección de Yates			0,0550	0,8147	
Prueba exacta de Fisher			Valor p		
-----			-----		
Unilateral			0,5881		
Bilateral			1,0000		

DIABETES**Presencia**

	Enfermos	Sanos	Total		
-----	-----	-----	-----		
Expuestos	2	1	3		
No expuestos	22	27	49		
-----	-----	-----	-----		
Total	24	28	52		
Prevalencia de la enfermedad			Estimación	IC (95,0%)	
-----	-----	-----	-----	-----	-----
En expuestos			0,666667	-	
-					
En no expuestos			0,448980	-	
-					
Razón de prevalencias 3,502524 (Katz)			1,484848	0,629482	
-----	-----	-----	-----	-----	-----

Prevalencia de exposición			Estimación	IC (95,0%)	
-----	-----	-----	-----	-----	-----
En enfermos			0,083333	-	
-					
En no enfermos			0,035714	-	
-					
Razón de prevalencias 24,167709 (Katz)			2,333333	0,225278	
-----	-----	-----	-----	-----	-----

	OR	IC (95,0%)			
-----	-----	-----	-----	-----	-----
2,454545	0,208537	28,890705	(Woolf)		
	0,296607	-	(Cornfield)		
Prueba Ji-cuadrado de asociación			Estadístico	Valor p	
-----	-----	-----	-----	-----	-----
Sin corrección			0,5390	0,4628	
Corrección de Yates			0,0190	0,8905	
Prueba exacta de Fisher			Valor p		
-----	-----	-----	-----	-----	-----
Unilateral			0,4413		
Bilateral			0,5895		

NEOPLASIAS**Presencia**

-----	Enfermos	Sanos	Total
Expuestos	1	0	1
No expuestos	23	28	51
-----	-----	-----	-----
Total	24	28	52

Existen una o varias celdas con frecuencia 0 y, por tanto, no se presentan algunos resultados

-----	Estimación	IC (95,0%)
Prevalencia de la enfermedad		
-----	-----	-----
En expuestos	1,000000	-
-		
En no expuestos	0,450980	-
-		
Razón de prevalencias 3,001604 (Katz)	2,217391	1,638065
-----	-----	-----

-----	Estimación	IC (95,0%)
Prevalencia de exposición		
-----	-----	-----
En enfermos	0,041667	-
-		
En no enfermos	0,000000	-
-		
Razón de prevalencias - Katz)	-	-
OR	IC (95,0%)	
-----	-----	-----
-	-	-
		(Woolf)
	-	(Cornfield)

-----	Estadístico	Valor p
Prueba Ji-cuadrado de asociación		
-----	-----	-----
Sin corrección	1,1895	0,2754
Corrección de Yates	0,0061	0,9379

-----	Valor p
Prueba exacta de Fisher	
-----	-----
Unilateral	0,4615
Bilateral	0,4615

