



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
Y PARASITOLOGÍA
CATEDRA MICOLOGÍA**



**COLONIZACIÓN DE PIEL Y MUCOSA ORAL POR ESPECIES DE
Candida Y SU RELACIÓN CON PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS Y
MICOLÓGICOS EN ESTUDIANTES DE MICOLOGÍA**

bdigital.ula.ve

Autora:

Villamizar D, Yadiria Mileydi

Tutor:

Prof. (a): Sarelle Carrero.

Mérida, Junio de 2015



**UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA
Y PARASITOLOGÍA
CATEDRA MICOLOGIA**



**COLONIZACIÓN DE PIEL Y MUCOSA ORAL POR ESPECIES DE
Candida Y SU RELACIÓN CON PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS Y
MICOLÓGICOS EN ESTUDIANTES DE MICOLOGÍA**

Trabajo de Grado para Optar al Título de Licenciada En Bioanálisis

Autora:

Villamizar D, Yadirla Mileydi

Tutor:

Prof. (a): Sarelle Carrero.

Mérida, Junio de 2015

UNIVERSIDAD DE LOS ANDES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOANÁLISIS
ESCUELA DE BIOANÁLISIS
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA
CATEDRA MICOLOGÍA

COLONIZACIÓN DE PIEL Y MUCOSA ORAL POR ESPECIES DE
Candida **Y SU RELACIÓN CON PARÁMETROS DEMOGRÁFICOS Y**
MICOLÓGICOS EN ESTUDIANTES DE MICOLOGÍA

Trabajo de Grado para Optar al Título de Licenciada En Bioanálisis

Autor: Yadiria Villamizar Duque
Tutora: Sarelle Carrero

RESUMEN

Candida es un organismo comensal que forma parte de la flora normal del ser humano, dicha colonización depende de la capacidad de adherencia de *Candida* a las células del hospedero y de las defensas del mismo. Según estudios realizados se ha encontrado colonización por *Candida* en individuos aparentemente sanos siendo *Candida albicans* la mayor aislada. El objetivo principal de esta investigación fue comprobar la colonización de piel y mucosa oral por especies de *Candida* y su relación con parámetros demográficos y micológicos, en estudiantes de Micología Escuela de Bioanálisis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes en el periodo U-2012. **Metodología:** fue una investigación de campo de tipo investigativo, transversal, descriptivo y exploratorio. Se incluyeron 63 estudiantes de la asignatura de micología aparentemente sanos con consentimiento informado. Se recolectaron datos clínico-epidemiológicos, la muestra fué tomada mediante hisopados de la piel y de la cavidad oral, las cuales se sembraron en medio de cultivo Agar Sabouraud dextrosa con antibiótico. Se realizaron las pruebas de identificación en medio cromogénico, bilis agar, corn meal, prueba de termotolerancia. **Resultados:** 22 muestras (35%) resultaron con cultivo positivo para especies de *Candida*, en piel 4 muestras (18%) y en mucosa oral 18(82%) encontrándose predominio de *C. albicans* (32%) con mayor colonización en edades entre 20 y 25 años 19(86,36%). **Conclusiones:** se encontró colonización y correspondencia entre las distintas especies de *Candida* aisladas, la edad y los medios de cultivo.

Palabras claves: colonización, *Candida*, parámetros demográficos y micológicos, estudiantes aparentemente sanos.

DEDICATORIA

A Dios Todopoderoso por darme la vida, acompañarme, guiarme siempre por el sendero del bien, enseñarme que lo importante de cada tropiezo es volver a levantarse y seguir siempre adelante y mostrarme que lo que se quiere de corazón se logra con amor. A la santísima virgen María por iluminarme en cada paso.

A mi madre Gregoria Duque por brindarme su amor incondicional, creer en mí, mostrarme que con honestidad y perseverancia y esfuerzo se puede lograr todos los sueños.

A mis hermanos, a quienes espero ser ejemplo de perseverancia y apoyo para ayudarlos a cumplir todos sus sueños y metas.

A mis amigas Isabel y Raquel por su apoyo y por compartir momentos de alegría y tristeza siendo más que amigas como hermanas.

AGRADECIMIENTOS

A Dios todo poderoso por ser mi amparo, mi refugio y el motor de mi vida por acompañarme siempre en todo lugar y momento, por permitirme alcanzar este gran logro en mi vida y demostrarme que nada es imposible cuando se quiere y que el tiempo de Dios es perfecto.

A la santísima virgen María por iluminarme por el camino del bien, escuchar mis oraciones, madre e intercesora mía ante Dios nuestro señor.

A mis padres por darme la vida, gracias por confiar en mí en especial a mi madre que a pesar de las distintas situaciones ha sido mi fuente de inspiración este logro no es mío es tuyo madrecita querida, te amo.

A la ilustre Universidad de Los Andes, por ser esa casa de conocimientos que permite hacer sueños realidad

A la Prof. Sarelle Carrero, por su tiempo, paciencia, dedicación y colaboración en el desarrollo de esta investigación, por su rigurosa asesoría y estímulo para seguir creciendo intelectualmente en un marco de respeto y confianza. Gracias por todo

Al personal del laboratorio de Micología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de Los Andes, Prof. Celina Pérez, Prof. Clara Díaz, Lcdo. Oduar Salazar y Alexander Moreno muchas gracias por toda su ayuda y apoyo brindado Dios les cuide.

A las personas amigas que incondicionalmente en lo largo de este trayecto me brindaron una mano, un consejo, cariño y amor, a todas ellas muchas gracias Dios les pague.

A todos ustedes.... Que Dios les bendiga siempre.

bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
RESUMEN	iii
DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE ESQUEMAS	xi
ÍNDICE DE TABLAS	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPITULO I. EL PROBLEMA	4
Planteamiento del problema	4
Justificación e importancia de la investigación	7
Objetivos de la investigación	8
<i>Objetivo General</i>	8
<i>Objetivos Específicos</i>	8
Alcances de la investigación	9
Limitaciones de la Investigación	10
CAPITULO II. MARCO TEÓRICO	11
Trabajos previos	11
Antecedentes Históricos o Epistemológicos	16
Bases teóricas	18
<i>Candida spp</i>	18
Especies de <i>Candida</i>	18
Colonización anatómica por Especies de <i>Candida</i>	24
Colonización Oral por Especies de <i>Candida</i>	24
Colonización Cutánea por Especies de <i>Candida</i>	25
Colonización Gastrointestinal por Especies de <i>Candida</i>	26
Candidiasis	27

Mecanismo de Adherencia de <i>Candida</i>	27
Factores de Virulencia de Las Especies de <i>Candida</i>	28
Diagnostico Micológico de Laboratorio	29
Estudio morfológico	31
Formación de clamidioconidias	31
Agar Cromogénico para <i>Candida</i> spp	31
Auxonograma (Perfil de Asimilación de Azucares)	32
Zimograma (Fermentación de Carbohidratos)	33
Tuvo germinal	33
Pruebas de termotolerancia	34
Pruebas de biología molecular	34
Definición de términos	35
Operacionalización de eventos de estudio	38
CAPITULO III. MARCO METODOLOGICO	45
Enfoque de la investigación	45
Tipo de investigación	45
Diseño de la investigación	46
Población y muestra	47
<i>Unidad de investigación</i>	47
<i>Muestra</i>	47
<i>Criterios de inclusión</i>	48
<i>Criterios de exclusión</i>	48
<i>Selección de la muestra</i>	48
Sistema de variable	48
Instrumento de recolección de datos	49
Metodología de investigación	49
<i>Estudio clínico y epidemiológico</i>	49
<i>Recolección y transporte de la muestra</i>	50
<i>Aislamiento e identificación de las especies de <i>Candida</i></i>	52

<i>Examen directo</i>	52
<i>Cultivo de muestra</i>	52
<i>Método de identificación cromogenico</i>	53
<i>Medio de cultivo Bilis-Agar</i>	53
<i>Filamentación en Agar Harina de Maíz</i>	53
<i>Prueba de termotolerancia</i>	54
Diseño de Análisis	54
CAPITULO IV. RESULTADOS Y DISCUSION	55
Resultados	55
Discusión	67
CAPITULO V. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	72
Conclusiones	72
Recomendaciones	73
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
ANEXOS	80
1. Consentimiento Informado	81
2. Instrumento de Recolección de Datos	83
3. Cuadro Coherencia interna	84
4. Cultivo de la muestra en Agar sabouraut dextrosa	85
5. Cultivo de las muestras en CHROMagar® <i>Candida</i>	86
6. Cultivo en Agar Harina de Maíz “CORN MEAL”	87

INDICE DE FIGURAS

FIGURAS	pág.
1. Distribución de frecuencia de estudiantes colonizados y no colonizados, pertenecientes a la Cátedra de Micología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad De Los Andes, en el periodo U-2012.	59
2. Distribución de frecuencia de colonización en la cavidad oral y la piel de los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad De Los Andes, en el periodo U-2012.	60
3. Distribución de frecuencia de Especies de <i>Candida</i> colonizantes como flora habitual de los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad De Los Andes, en el periodo U-2012.	61
4. Distribución de frecuencia de colonización en la cavidad oral de los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad De Los Andes, en el periodo U-2012.	62
5. Distribución de frecuencia de especies de <i>Candida</i> colonizantes como flora habitual de la piel de los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad De Los Andes, en el periodo U-2012.	63

ÍNDICE DE ESQUEMAS

	Pág.
ESQUEMAS	
1. Flujograma de la metodología realizada en la recolección de los datos clínico-epidemiológicos, la identificación de las especies de <i>Candida</i> como colonizantes de la mucosa oral y de piel en los estudiantes de Micología.	51

bdigital.ula.ve

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
TABLAS	
1. Operacionalización del Evento de Estudio: Colonización de la Mucosa Oral y de Piel de los Estudiantes.	38
2. Operacionalización del Evento de Estudio: Especies de <i>Candida</i> Colonizantes.	39
3. Operacionalización del Evento de Estudio: Edad de los Estudiantes de Micología Sujetos al Estudio de Colonización por Especies de <i>Candida</i> .	40
4. Operacionalización del Evento de Estudio: Género de los Estudiantes de Micología Sujetos al Estudio de Colonización por Especies de <i>Candida</i> .	41
5. Operacionalización del Evento de Estudio: Tratamiento con Antimicrobianos (antibióticos o antimicóticos) en los Estudiantes de Micología Sujetos al Estudio de Colonización por Especies de <i>Candida</i> .	42
6. Operacionalización del Evento de Estudio: Exámenes Directos de las Muestras de Hisopado en los Estudiantes de Micología Sujetos al Estudio de Colonización por Especies de <i>Candida</i> .	43
7. Operacionalización del Evento de Estudio: Pruebas de Identificación de las Diferentes Especies de <i>Candida</i> Colonizantes en los Estudiantes de Micología.	44
8. Análisis de contingencia entre las distintas especies de <i>Candida</i> aisladas como colonizantes y las muestras obtenidas de la cavidad oral y la piel de los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología.	64

9. Análisis de contingencia entre las distintas especies de *Candida* aisladas como colonizantes y la edad de los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología. 65
10. Análisis de contingencia entre las distintas especies de *Candida* aisladas como colonizantes y la administración de antimicrobianos en los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología. 66

bdigital.ula.ve

INTRODUCCIÓN

El conocimiento de la existencia de los microorganismos como flora habitual o comensal presentes en la población humana, sin que esta ocasione algún tipo de afección al hospedero, es de gran importancia. Cabe destacar que la flora bacteriana comensal no es vital en el organismo del huésped, pero si resulta ser altamente beneficiosa en cuanto a sus funciones fisiológicas, es decir, posee un alto rendimiento en la reabsorción de nutrientes; también facilita el mecanismo de protección, a través de la formación de un nicho ecológico, el cual impide la colonización de otros microorganismos que son altamente patógenos.

Entre las especies que colonizan y se encuentran como flora habitual en el huésped están las especies de *Candida*, con un predominio de *Candida albicans* en estado normal, pero cuando hay alteración de la microbiota pueden llegar a producir cuadros clínicos e infecciones ocasionales o permanentes, que suelen ser valorizadas por medio de un diagnóstico médico; tomándose en cuenta el estudio cuantitativo ya que es de gran interés para diferenciar la colonización de una infección. Se dice que una colonización está dada en sitios anatómicos específicos, mientras que la infección presenta sintomatología y manifestaciones clínicas. En condiciones normales *C. albicans* se encuentra colonizando cavidad oral, tracto gastrointestinal, tracto genitourinario, vagina, sistema respiratorio y piel.

La justificación de esta investigación estuvo representada por aspectos teóricos, procedimentales y de aplicación. En cuanto a los aspectos teóricos estos deben ser profundizados para lograr el aporte de conocimientos en cuanto a la colonización en una población aparentemente sana de la especies de *Candida* como flora habitual, correlacionando la relación entre el género, edad y administración de algún tratamiento antimicrobiano o anti-fúngico.

La metodología de la investigación estuvo conformada con la participación voluntaria de los estudiantes, a quienes se les llenó una ficha clínica como recolección de datos tomando en cuenta algunas consideraciones. Posterior a esto se procedió a la toma de muestras en este caso un hisopado oral, el cual se realizó raspando de las paredes de la cavidad oral y un hisopado de piel a nivel del antebrazo, dichas muestras se tomaron en el momento del ingreso del estudiante a las clases de la asignatura de Micología.

El procesamiento micológico de las diferentes muestras recolectadas y su respectivo análisis se realizó en un periodo no más de 24 horas, usando las técnicas de cultivo cuantitativo en Agar Sabouraud dextrosa con cloranfenicol, identificación con el medio cromogénico CHROMAgar® *Candida*, prueba de clamidioconidias en bilis Agar, filamentación en Agar de Harina de Maíz (Corn Meal) y pruebas de termotolerancia. Estas pruebas de identificación cumplen un papel muy importante en cuanto a la diferenciación de las distintas especies de *Candida*, mediante su coloración y comparación de colonias si son cultivadas en un cromogénico como es CHROMAgar®, o mediante pruebas bioquímicas.

El presente trabajo de grado ha sido estructurado en V capítulos. El capítulo I, denominado el problema, contiene los siguientes elementos: planteamiento del problema, Justificación e importancia, Objetivos, Alcances y Limitaciones de la investigación. El capítulo II, llamado Marco Teórico abarca: Trabajos previos, Antecedentes Históricos o Epistemológicos, Bases Teóricas, Definición de Términos, Operacionalización de las Variables e Hipótesis. El capítulo III, titulado Marco Metodológico abarca: Tipo de Investigación, Diseño de Investigación, Población y Muestra, Instrumento de recolección de Datos, Procedimientos de la Investigación y Diseño de Análisis. El capítulo IV, denominado Resultados y Discusión, y finalmente, El Capítulo V, titulado: Conclusiones y Recomendaciones.

Partiendo de allí, el propósito de la presente investigación fue comprobar la colonización de piel y mucosa oral por especies de *Candida* y su relación con parámetros demográficos y micológicos en los estudiantes de Micología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis de la Universidad de Los Andes en el periodo U-2012.

bdigital.ula.ve

CAPITULO I

EL PROBLEMA

Planteamiento del Problema

Candida es un organismo comensal que forma parte de la flora normal del ser humano, puede afectar a individuos de cualquier edad, raza o género, siendo los factores pre-disponentes del huésped en combinación con los del microorganismo, los que favorecen el desarrollo de la infección. Se encuentra entre el 30% y 70% de la población, y su transformación de comensal en patógeno puede estar asociada a la virulencia del microorganismo (Bengel, 2010).

Es necesario considerar que la cavidad bucal constituye un ambiente favorable para la colonización de microorganismos oportunistas como los hongos del género *Candida*, sin embargo, no resultan ser patógenos debido a que la flora normal bacteriana y el sistema inmunitario limitan su crecimiento y frenan su excesiva proliferación, manteniendo así un equilibrio (Pardi y Cardozo, 2002).

Es conveniente destacar que las membranas de la mucosa bucal, vaginal e intestinal normales, son capaces de soportar poblaciones de *Candida* sin que sufran ningún efecto aparente de enfermedad. Además, la frecuencia de estos microorganismos parece que aumenta con la edad. Sin embargo, cuando existe debilidad, desnutrición, alteración o ausencia de mecanismos de defensa normales del cuerpo (inmunosupresión), o una notable descompensación en el balance normal de la superficie de la microbiota por la administración de antibióticos de amplio espectro, estos hongos pueden

causar infecciones características, que pueden ser bastantes graves e incluso poner en peligro la vida del paciente (Panizo y Reviákina, 2001).

Las infecciones fúngicas invasoras, tanto las adquiridas en la comunidad como las nosocomiales, son cada vez más frecuentes ya que, en la actualidad, existe mayor número de sujetos con riesgo de adquirir una micosis profunda que en décadas previas. Por otra parte, la morbilidad y mortalidad de las infecciones ocasionadas por *Candida* es elevada por lo que las micosis invasoras se han convertido en un importante problema de salud pública del que no se posee suficientes datos epidemiológicos ni de sensibilidad antifúngica (Pfaller y Diekema, 2007).

El propósito de este estudio fue comprobar la colonización por especies de *Candida* en una población de estudiantes aparentemente sanos, es decir sin que estos presentaran clínicamente afección en la cavidad oral y en la piel y su relación con parámetros demográficos y micológicos; logrando así de esta manera el aporte de información sobre la colonización por especies de *Candida* en individuos relativamente sanos. Vale la pena señalar que la capacidad que posee *Candida* spp de colonizar las superficies, puede ser considerada como un factor de riesgo para la infección a futuro de las mucosas e incluso órganos.

Por lo anteriormente expuesto una vez estudiada la situación del problema de estudio, se elaboró una serie de interrogantes con respecto al enunciado holopraxico:

- ¿Es posible que exista colonización por diversas especies de *Candida* en la mucosa oral de los estudiantes de Micología?
- ¿Es posible que exista colonización por las diversas especies de *Candida* en la piel de los estudiantes de Micología?
- ¿Cuáles son las especies de *Candida* que colonizan la mucosa oral de los estudiantes de Micología?

- ¿Cuáles son las especies de *Candida* que colonizan la piel de los estudiantes de Micología?
- ¿Cuál sería la relación entre el examen directo y el cultivo de las muestras del hisopado de la mucosa oral y de la piel en los estudiantes de Micología?
- ¿Cuál sería la prueba de identificación que discrimine el mayor número de especies de *Candida* aisladas de la mucosa oral de los estudiantes de Micología?
- ¿Cuál sería la prueba de identificación que discrimine el mayor número de especies de *Candida* aisladas de la piel de los estudiantes de Micología?
- ¿Cómo es la relación entre las especies de *Candida* recuperadas de la mucosa oral y el género de los estudiantes de Micología?
- ¿Cómo es la relación entre las especies de *Candida* recuperadas de la piel y el género de los estudiantes de Micología?
- ¿Cómo es la relación entre las especies de *Candida* recuperadas de la mucosa oral y la edad de estudiantes de Micología?
- ¿Cómo es la relación entre las especies de *Candida* recuperadas de la piel y la edad de los estudiantes de Micología?
- ¿Cómo es la relación entre las especies de *Candida* recuperadas de la mucosa oral y la administración de antimicrobianos en los estudiantes de Micología?
- ¿Cómo es la relación entre las especies de *Candida* recuperadas de la piel y la administración de antimicrobianos en los estudiantes de Micología?

Justificación de la Investigación

Según Hernández, Fernández y Baptista, (2010) refieren la justificación de la investigación como la necesidad de establecer un estudio que contribuya a resolver una problemática, considerando el porqué de dicha investigación y los beneficios que esta aportará.

Los estudios de colonización por *Candida* spp a nivel de las mucosas y piel, deben ser más profundizados debido a la falta de definición y conocimiento de los mismos, es por ello que fue necesario realizar la presente investigación realizando una revisión de las bases teóricas sobre el problema de estudio, lo que justifica a esta investigación dentro de lo referente a los postulados teóricos que lo fundamentan.

De igual manera fue necesaria la revisión de la metodología referida a las técnicas utilizadas para el aislamiento e identificación de las diferentes especies de *Candida* y su actualización; logrando que contribuyan al aporte o aplicación por parte de otros investigadores que aborden temas similares referentes a la problemática que se planteó.

Cabe considerar que la información disponibles sobre la determinación de *Candida* spp como colonizantes es escasa. Por lo que es conveniente destacar que este microorganismo se encuentra en nuestro organismo como flora normal o comensal, la cual puede alterarse por factores pre-disponentes.

En efecto la investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Micología "Corrado Capretti" (Departamento de Microbiología y Parasitología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, de la Universidad de Los Andes) en los estudiantes pertenecientes a la asignatura de Micología, período U-2012. A dicha población se les tomo muestras de la mucosa oral y de la piel, que posteriormente fueron aisladas e identificadas con técnicas que permitieron diferenciar las distintas especies de *Candida* como

colonizantes estableciendo así su relación con parámetros demográficos y micológicos.

Es importante mencionar que la presencia de hongos y levaduras en la población sana explicaría que las posibles futuras afecciones micóticas que pudieran ocurrir serían "oportunistas", y que dependerían principalmente de las condiciones pre-disponentes del huésped, de la virulencia del microorganismo y de los factores ambientales externos. Por otro lado es posible que la población presente *Candida* spp como portadores asintomáticos; y a su vez, estos se conviertan en diseminadores de la levadura, los cuales pudiesen infectar y producir cuadros clínicos en huéspedes susceptibles. Los portadores sanos constituyen una potencial fuente de infección para pacientes inmunosuprimidos.

Objetivos de la Investigación

Objetivo General

Comprobar la colonización de piel y mucosa oral por especies de *Candida* y su relación con parámetros demográficos y micológicos, en estudiantes de Micología.

Objetivos Específicos

1. Demostrar la presencia de *Candida*, por especies y el foco de colonización.
2. Constatar la presencia de *Candida*, por especies, el foco de colonización y la edad de los estudiantes evaluados.
3. Confirmar la presencia de *Candida*, por especies, el foco de colonización y género de los estudiantes evaluados.

4. Mostrar la presencia de *Candida*, por especies, el foco de colonización y el uso de antimicrobianos.

5. Mostrar la presencia de *Candida*, por especies, el foco de colonización y las pruebas de identificación de las especies.

6. Verificar la presencia de *Candida*, por especies, el foco de colonización y la relación entre los exámenes directos y los cultivos micológicos.

Alcances de la Investigación

Según Hernández, y cols. (2010) el alcance de una investigación establece el compromiso de un investigador en cuanto a la exploración, profundización descripción y explicación del problema indicando los resultados que generará con su proyecto.

El alcance y logro de la presente investigación fue comprobar la colonización de la piel y mucosa oral por *Candida* spp, en estudiantes que no presentaban sintomatología clínica sugestiva de infección causada por esta levadura, permitiendo describir de manera detallada su relación con parámetros demográficos y micológicos como la edad, el género, el uso de antimicrobianos y la identificación mediante los diferentes medios de cultivo utilizados. De esta manera se logra el aporte de información sobre la colonización de *Candida* spp en la población estudiantil de Micología, que contribuirá a despertar el interés de otros investigadores en cuanto a la acción de este agente infeccioso en el organismo y en el entorno.

Limitaciones de la Investigación

La presente investigación realizada no presento limitaciones dentro del contexto teórico o técnico. Los recursos económicos para el procesamiento de las muestras se obtuvieron a través de la solicitud de financiamiento al CDCHT. Por lo que la investigación realizada fue viable.

bdigital.ula.ve

CAPITULO II

MARCO TEÓRICO

Trabajos Previos

Un estudio realizado por Salazar y Sacsquispe, (2005) titulado: Presencia de hifas de *Candida* en adultos con mucosa oral clínicamente saludable. La presente investigación es de tipo cuantitativo e investigativo cuyo objetivo fue determinar la presencia de hifas y/o pseudohifas de *Candida* en sujetos adultos con mucosa oral clínicamente saludable. Se examinaron 120 sujetos entre 20 y 59 años de edad. Se efectuaron frotis de mucosa oral para tinción con Acido Periódico de Schiff (PAS) y cultivo en Agar Sabouraud. El análisis se realizó con la prueba chi-cuadrado para determinar su relación con edad, genero, uso de prótesis, xerostomía, uso de medicamentos, índice de higiene oral, especie de *Candida* y cantidad de UFC/ml. Del total de sujetos, 6 (5%) de ellos presentaron hifas y/o pseudohifas de *Candida*, 5 de estos presentaron <400 UFC/ml. No se encontró relación entre la presencia de *Candida* con respecto a la edad, género, uso de medicamentos, índice de higiene oral; mientras que si se encontró relación entre la presencia de hifas y/o pseudohifas de *Candida* y el uso de prótesis dental, xerostomía y UFC/ml, hallándose relación estadística altamente significativa ($p < 0.01$). En conclusión, puede existir la presencia de hifas y/o pseudohifas de *Candida* en sujetos adultos de la mucosa oral clínicamente saludable sin evidencia clínica de infección candidiásica. Esta investigación respalda lo planteado en este proyecto porque los autores

determinarán la presencia de *Candida* en adultos clínicamente saludables además usaron metodología similar en cuanto a la identificación.

Bulacio, Ramadán, López, Ramos, Marozzi, Sortino, Nanini, Paz y Escovich, (2010). Publicaron un trabajo titulado: Estudio comparativo entre una población adulta y una pediátrica, de la colonización de la mucosa oral por hongos levaduriformes. La presente investigación fue un estudio comparativo, investigativo y exploratorio donde el objetivo fue revelar la prevalencia de diferentes especies del género *Candida* en mucosa oral, comparativamente en adultos y niños. Se tomó hisopado oral de dos poblaciones: adultos (rango de edades: 21-60 años) y niños (rango de edades: 2-12 años), que concurren al consultorio odontológico para control de rutina, sin sintomatología de afecciones orales. Se tomaron 100 muestras de cada grupo etario, realizando hisopado de la mucosa oral, suspensión en solución fisiológica estéril y análisis micológico de rutina, que consistió en el examen directo, cultivo e identificación de los aislamientos. Los resultados obtenidos fueron los siguientes: En la población adulta, 35% de los análisis micológicos fue positivo, siendo *C. albicans* la especie prevalente (57,15% de los aislamientos), seguida por *C. tropicalis* (20%), *C. parapsilosis* (11,42%), *C. krusei* (8,57%) y *C. glabrata* (2,86%). En la población infantil, en cambio, la portación de levaduras alcanzó al 57% de los pacientes estudiados, siendo también *C. albicans* la especie prevalente (75,44 % de los aislamientos), seguida de *C. parapsilosis* (10,53%) y *C. tropicalis* (7,03%), encontrándose en muy menor proporción *C. krusei* (3,50%), *C. famata* y *C. glabrata*, ambas con una prevalencia de 1,75%. Esta investigación tiene relación con este proyecto, ya que los autores investigaron la colonización de levaduras encontrando a ciertas especies como colonizantes en la población estudiada sin afecciones orales.

Un estudio realizado por Rueda, Hernández, Ordoñez, Villamil y Godoy. (2011) titulado: Portadores de *Candida* oral en pacientes atendidos en una

clínica dental de Tabasco, México. El objetivo del estudio, fue conocer la presencia de portadores de *Candida albicans* y *Candida no albicans* en un grupo de sujetos sanos del estado de Tabasco, México. El estudio fue descriptivo, con un diseño transversal y prospectivo. Se estudiaron 149 pacientes que acudieron a consulta odontológica a la Clínica Juchiman II perteneciente a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Se utilizó el medio de cultivo diferencial CHROMagar® *Candida*, prueba de tubo germinativo y crecimiento a 45°C para su identificación. El 38,3% de los pacientes fueron identificados como portadores de *Candida* oral, *C. albicans* fue la más frecuente con el 56.1%, seguida de *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. tropicalis*. El 12,3% de los pacientes presentaron más de una especie de *Candida*. No se encontró asociación entre los cultivos positivos a *Candida* y el género de los sujetos de estudio ($p>0.1$). Este estudio aporta los primeros datos epidemiológicos sobre la colonización por *Candida* oral en el estado de Tabasco, México. El estudio respalda lo planteado en este proyecto porque se identificaron diferentes especies de *Candida* como colonizantes de cavidad oral y por la utilización de una metodología similar empleada, además de correlacionar las especies con los parámetros demográficos estudiados.

Un estudio realizado por Jaimes, Hernández, Martínez, Rodríguez y Arenas. (2008) titulado: Portadores de *Candida* en la mucosa oral: tipificación de 35 cepas con CHROMagar® *Candida*. El estudio es de tipo descriptivo, observacional y transversal realizado en adultos de uno y otro sexo seleccionados entre los pacientes del servicio de micología mediante un protocolo paralelo cuyo Objetivo: tipificar las especies de *Candida* con CHROMagar® en pacientes portadores del servicio de micología de un hospital de concentración de la Ciudad de México. Las muestras se tomaron con dos hisopos estériles; uno para el examen directo con lugol, en el que se confirmaron las estructuras levaduriformes en pacientes con resultados

positivos. El segundo hisopo se utilizó para inocular la muestra en tubos con medio de cultivo Agar dextrosa Sabouraud (BD BBL®), que se incubó a 37°C durante dos semanas; se observó a los organismos diariamente, para lo que se utilizó examen directo con solución salina fisiológica estéril. En estos cultivos se hizo la cuenta general de colonias. Posteriormente los cultivos positivos se inocularon en CHROMagar® *Candida* a 37°C durante 48 horas (BD BBL®), que es un medio de cultivo cromogénico específico para identificar las especies de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata* y *C. krusei*, por sus colores: verde, azul, rosa brillante y rosa mate, respectivamente. Se les hizo la prueba de tubos germinales con plasma citratado. Resultados: se examinaron 35 pacientes sin manifestaciones clínicas de candidiasis oral, 13 hombres (37.1%) y 22 mujeres (62.8%), cuya edad iba de 20 a 83 años; 18 (51.4%) eran portadores de *Candida*. Las variantes más frecuentes fueron *C. albicans* (8 casos, 44.4%), seguida de *C. tropicalis* (4 casos, 22.2%). En cuanto a las conclusiones: la frecuencia de portadores de *Candida* en la mucosa oral es elevada y *C. albicans* es la especie más a menudo aislada. Los métodos cromogénicos permiten su identificación fácil y rápida. Esta investigación tiene relación con este proyecto, ya que los autores investigaron la tipificación de las distintas especies de *Candida* como colonizantes en la población estudiada, además utilizaron metodología similar como el uso del medio cromogénico CHROMagar® *Candida*.

Mesa, González, Rodríguez, Robertiz, Urdaneta, Calvo, Silva y Villalobos. (2009) publicaron un trabajo titulado: Colonización por levaduras en piel sana de recién nacidos. Este fue un estudio de tipo analítico, transversal, no experimental realizado en el niño recién nacido, donde la colonización por especies de levaduras puede ser el precursor de una infección clínica. El objetivo evaluar la colonización por levaduras en piel de neonatos nacidos a término en las primeras 48 horas del nacimiento. Las muestras de piel, de 100 niños, se tomaron de diferentes regiones anatómicas. Se empleó el

método de la impronta con cinta plástica transparente. Se realizó un examen directo con azul de metileno (0,25%) y se cultivó en los medios Sabouraud Dextrosa Agar y Dixon con antibióticos. La identificación de los aislados se hizo según metodología clásica. Los resultados indican que los neonatos presentaron una colonización por levaduras en un 45%. Se observó una colonización baja por *Malassezia furfur* (5%) y el predominio de *Candida parapsilosis* (87,9%). Esta especie de *Candida* fue aislada en un 54,2% cuando el nacimiento fue por cesárea y, 33,7% cuando fue por parto. El alto porcentaje de colonización por *C. parapsilosis* tanto en los niños nacidos por parto como por cesárea podría deberse a la transmisión horizontal a partir de las manos del personal de salud que los atiende. Esta investigación tiene relación con este proyecto, ya que los autores investigaron la colonización de *Candida* en piel utilizando medios de cultivos similares como Agar Sabouraud Dextrosa con antibiótico.

Antecedentes Históricos o Epistemológicos

Uno de los aspectos más importantes a considerar es el relativo a los cambios taxonómicos operados en la principal especie patógena: *Candida albicans*. Desde que Robin la denominó *Oidium albicans*, 1853 esta especie estuvo incluida en 100 nóminas y pasada a través de 18 géneros, según deduce del texto *The Yeast*. De esos géneros solo dos han prevalecido por largo tiempo en la taxonomía de la especie: el género *Monilia candida* por (Plaut, 1885), y luego *Monilia albicans* por (Zopt, 1890) que se denominó en la literatura hasta el trabajo de Berkhout, 1923; creando el género de *Candida* que fue aceptado por el 3er. Congreso Internacional de Microbiología en 1939. Desde entonces se pasaron al género *Candida* todas aquellas levaduras que no encajaban en el género *Monilia*, por lo cual todas aquellas afecciones producidas por *Candida* se conocen con el nombre de candidiasis.

C. albicans ha sido aislada de la piel normal, de las membranas, mucosas oral y vaginal, así como de las heces de individuos normales, lo que da margen para pensar que la mayoría de las infecciones provienen de una fuente endógena. Determinadas condiciones o factores exaltan la virulencia de las especies de *Candida*. El periodo de mayor interés en la historia de las infecciones por *Candida* comenzó en la década de 1940, cuando se introdujo el uso generalizado de los antibióticos. Desde entonces se han producido manifestaciones no documentadas con anterioridad en las infecciones por *Candida* y ha aumentado de forma abrupta la incidencia de casi todas las candidiasis (Casas Rincón, 1980).

Desde principios de la década de los 80, los hongos constituyen una de las principales causas de enfermedades humanas, especialmente entre los

grupos de pacientes inmunocomprometidos y hospitalizados con enfermedades subyacentes graves. Las especies del género *Candida*, constituyen un grupo de hongos levaduriformes que pueden encontrarse como parte de la microbiota comensal de las cavidades humanas (rectal, oral, vaginal, uretral, nasal y auditiva) y piel. Existen factores predisponentes tanto locales como sistémicos, como el estado de inmunosupresión causado por la presencia del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH), cáncer, diabetes mellitus, leucemia, edad (niños y ancianos), utilización de antibióticos de amplio espectro, quimioterapias citotóxicas, entre otros, que han contribuido al incremento de infecciones causadas por este microorganismo a nivel mundial (Casas, 1980; Greenfield, R., Hazen K. y Howell S, 2007; Pardi, 2002).

En 1991, Calderone y Braun hacen referencia a diversos compuestos que permiten la unión de este hongo a células epiteliales, plaquetas de fibrina, y materiales y plástico. La adherencia de especies de *Candida* a las células epiteliales bucales ha sido estudiada desde hace tiempo. También Mavor, Thewes y Hube, 2005 mencionaron que factores, como la presencia de caries, mala higiene bucal, uso de prótesis dentales, maloclusión, y salivación reducida (xerostomía), han sido asociados a la colonización por *Candida*. Diversos estudios han confirmado la asociación entre la presencia de especies de *Candida* y diversos grupos de poblaciones, siendo *C. albicans* la especie más frecuentemente encontrada tanto en pacientes inmunocomprometidos como en sujetos sanos.

Bases Teóricas

***Candida* spp**

Es un hongo dimórfico que se caracteriza por ser una célula eucariótica de forma levaduriforme o blastospora, el se reproduce asexualmente por un proceso específico de división celular conocido como gemación. La especie más frecuentemente aislada es *C. albicans*, fuertemente Gran positivo, capaz de vivir como un organismo comensal normal en la cavidad oral de las personas sanas. Siendo aislado mayormente en la cavidad oral, sin embargo bajo ciertos factores locales y sistémicos relacionados con las condiciones del huésped, puede pasar a ser virulento y responsable de las enfermedades orales conocidas como candidiasis (Casas, 1980; Bengel, (2010).

Especies de *Candida*

El género *Candida* comprende más de 150 especies, pero solamente algunas de estas son patógenas para el hombre. Diversas especies pertenecientes al género producen infecciones en la cavidad bucal, siendo *C. albicans* la especie más virulenta y la que se halla presente en la mayoría de los casos. No obstante, otras especies del género *Candida* menos virulentas que *C. albicans*, también pueden encontrarse implicadas en procesos infecciosos de la cavidad bucal, y en infecciones cutáneas entre estas: *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. kefyr*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. famata*, *C. lusitaniae*, *C. dubliniensis* entre otras (Murray, Rosenthal, Kabayashi y Pfaller, 2002; Panizo y Reviákina, 2001).

C. albicans

C. albicans es una especie de levadura que crece una temperatura óptima de 37° C (temperatura corporal). Siendo el hombre el principal reservorio de este hongo, esta levadura necesita para su supervivencia humedad, así que sus zonas preferidas para habitar son la piel, uñas, estómago, colon, recto, boca y garganta de individuos sanos. *C. albicans* suele presentarse como una célula oval con un tamaño medio de 2 a 4 micras; sin embargo, en tejidos infectados también se han identificado formas filamentosas cuyos extremos presentan diámetros de 3 a 5 micras (Pardi y Cardozo, 2002; Panizo y Reviákina, 2001).

Candida en principio no es patógena, ya que la flora bacteriana beneficiosa y el sistema inmunitario limitan su crecimiento y frenan su excesiva proliferación, manteniendo así un equilibrio. Si el equilibrio se rompe, *C. albicans* empieza a proliferar y puede dar lugar a un conjunto de enfermedades denominadas Candidiasis o micosis candidiásica, que pueden consistir en leves infecciones de mucosas y piel o desencadenar diseminaciones sistémicas graves, pudiendo afectar órganos vitales. La adherencia de *C. albicans* a las células epiteliales de la boca facilita la colonización y puede ser considerada como el primer paso en la patogénesis de la enfermedad (Salazar y Sacsquispe, 2005).

C. krusei

Es un comensal transitorio del hombre y ha sido aislado con menor frecuencia en las superficies mucosas de la cavidad oral, el tracto gastrointestinal, vaginal y anorrectal. Esta especie ha surgido en los últimos años como un patógeno oportunista y cabe considerar que su patogenicidad y virulencia es mucho más baja que *C. albicans*; representa del 10% al 35%

de las especies de *Candida* aisladas de muestras clínicas (Pfaller y Diekema, 2007).

Cabe considerar que es un patógeno nosocomial que principalmente afecta a los pacientes inmunodeprimidos, aquellos con neoplasias hematológicas, y los receptores de trasplante; además, está asociado con algunas formas de diarrea infantil. Tienden también a colonizar e infectar el tracto vaginal y urinario de personas inmunocompetentes, se conoce que tiene además una resistencia natural al fluconazol, un agente antimicótico estándar. (Hazen y Howell, 2007).

C. parapsilosis

C. parapsilosis es un microorganismo morfológicamente caracterizado por células redondeadas, ovales o alargadas y producción de pseudohifas. No es un patógeno humano obligado y forma parte de la flora normal endógena. *C. parapsilosis* se encuentra asociada a una amplia gama de entidades, desde infecciones superficiales, las cuales afectan principalmente el lecho ungueal tanto de manos como de pies, piel, oído medio, hasta infecciones sistémicas que pueden llegar a comprometer la vida del paciente. Dentro de los factores de riesgo significativamente asociados con colonización en pacientes se encuentran: trastornos crónico-degenerativos, particularmente diabetes mellitus, así como obesidad, inmunosupresión, antibioticoterapia prolongada, nutrición parenteral, estancias hospitalarias prolongadas, cirugía y la utilización de dispositivos de asistencia médica (Figueiredo, Assis Santos, Resende, 2007; Butler, Rasmussen y Lin, 2009).

La patogénesis de la infección debida a *C. parapsilosis* se basa en diversos factores de virulencia que posee el microorganismo, primordialmente su adherencia a las células del hospedero, su capacidad de producir extensas biopelículas, así como la secreción de ciertas enzimas

hidrolíticas. La formación de biopelículas es un importante factor de virulencia para varias especies de *Candida*, ya que limita la penetración de antifúngicos a través de la matriz, confiriendo resistencia significativa a la terapia, además de protección frente a la respuesta inmune del hospedero. Actualmente no hay consenso respecto al tratamiento de la enfermedad invasiva originada por *C. parapsilosis*, aunque el manejo terapéutico habitualmente incluye: anfotericina B, ciertos compuestos azólicos, flucitosina y las equinocandinas (Trofa, Gácsér y Nosanchuk, 2008).

C. glabrata

Es un hongo patógeno oportunista que normalmente se encuentra como comensal en las mucosas de individuos sanos, pero puede invadir tejidos más profundos y causar enfermedades graves cuando el sistema inmunológico del hospedero se encuentra atenuado, Como es el caso de los pacientes con cáncer sujetos a tratamiento quimioterápico, pacientes de quirúrgicos y receptores de trasplantes de órganos tratados con inmunosupresores. *C. glabrata* además, presenta una alta resistencia innata al agente fungistático fluconazol, que se utiliza como agente profiláctico en pacientes inmunocomprometidos (Rodríguez, Arenas y Krcmery, 1999; Pfaller y Diekema, 2004).

C. glabrata se aísla cada vez con mayor frecuencia de muestras clínicas, como agente de candidosis vaginal, de micosis sistémicas graves y de candidemia en los enfermos críticos, en inmunodeprimidos con neoplasias hematológicas o sólidas y en las mujeres afectadas de vaginitis con flujo aumentado. *C. glabrata* corresponde a la especie cultivada con mayor frecuencia después de *C. albicans*. En ausencia de algunos factores de virulencia, como la producción de pseudohifas, consideradas como estructuras que incrementan la adherencia y penetración del hongo en los tejidos, lleva a

considerar que *C. glabrata* es menos virulenta que otras especies, como *C. albicans* o *C. tropicalis*. Sin embargo *C. glabrata* produce proteinasas y presenta hidrofobicidad en su superficie celular, similar a *C. albicans*, facilitando su adherencia. Además, la alta mortalidad asociada a infecciones por esta levadura y su prevalencia, apoyan la idea que este microorganismo es un patógeno (Fidel, Vázquez y Sobel, 1999; Torres, 2013).

C. tropicalis

Candida tropicalis es una levadura comúnmente encontrado en la piel y en el tracto digestivo de los humanos sanos en todo el mundo. Las infecciones causadas por *C. tropicalis* se presentan entre el 4% y 24% de los pacientes, esta especie sugiere ser tan virulenta como *C. albicans* teniendo un alto potencial de diseminación en pacientes neutropenicos, *C. tropicalis* ha sido identificada como la especies de levadura patógena más común del grupo de *Candida no-albicans*. Las infecciones debido a *C. tropicalis* se han incrementado considerando a este organismo como un patógeno emergente (Pfaller y Diakema, 2007).

Su resistencia primaria al fluconazol es poco común, pero puede ser inducida en la exposición, es por ello que los médicos en regiones en las que *C. tropicalis* tiende a ser común deben ser conscientes de que este patógeno es menos descrito en la literatura pero de alta importancia medica debido a su incidencia (Bailliere y Tindall, 1988; Chai, Denning y Warn, 2010).

C. guilliermondii

C. guilliermondii es una levadura emergente, que produce fungemia, osteomielitis y peritonitis. Es una causa poco frecuente de la candidiasis

invasiva. *C. guilliermondii* ha demostrado tener una disminución de la susceptibilidad a varias clases de agentes antifúngicos; como es el fluconazol y la anfotericina B. Esta levadura puede transmitirse de paciente a paciente en el ámbito hospitalario, y puede estar asociada con la presencia de un cuerpo extraño intravascular (Masala, Luzzati, Maccacaro, Antozzi, Concia y Fotana, 2003; Corrado, Pizzarelli, Francesco, Spreghini, Giorgio y Pietro, 2006).

C. lusitaniae

C. lusitaniae está siendo reconocida como un patógeno nosocomial emergente en los pacientes graves e inmunodeprimidos, por lo general de pronóstico fatal en infecciones sistémicas a pesar de lo infrecuente. Su interés clínico radica en su capacidad para desarrollar resistencia a la anfotericina B, fundamentalmente en el contexto de tratamiento con este fármaco. Esta especie tiene pseudohifas bien desarrolladas, en los medios de cultivo habituales las colonias son de color y aspectos cremosos, deslizantes, blandas y suaves. La incidencia como patógeno es baja, alcanzándose frecuencias del 1-2% en las candidosis de origen nosocomial (Mcclenny, Fei y Baron, 2002; Lewis, Atkinson y Kontoyiannis, 2008).

C. stellatoidea

Normalmente se encuentra en la cavidad oral, en el tracto gastrointestinal y en la vagina. Vive como saprofito en plantas, por lo que no es considerado como un patógeno, sin embargo se han reportado casos de colonización e infección en pacientes con cáncer (Krcmery y Barnes, 2002).

C. dubliniensis

Es una especie de reciente descripción que antes se incluía dentro de *C. albicans* por su estrecha relación. La separación de ambas especies por los métodos micológicos convencionales no es sencilla, razón por la cual numerosos investigadores han recurrido a técnicas relacionadas con el ADN para su correcta identificación; *C. dubliniensis* a resultado resistentes a algunos antifúngicos, como el fluconazol, hecho que ha generado un gran interés por la importancia que podría tener en el fracaso terapéutico de muchos pacientes (Vargas, Garaizar, Pontón y Quindós, 2000; Perurena, Fernandez, Martinez, Mendoza y Valdes, 2006).

Colonización anatómica por Especies de *Candida*

La colonización hace referencia a la presencia de flora microbiana en dos o más sitios anatómicos en este caso *Candida* spp en la piel y/o en membranas mucosas, mientras que la infección se refiere a invasiones locales o sistémicas de microorganismo con sus consecuentes manifestaciones clínicas (Mendívil, Egúes y Polo, 2000; Pittet, Monod, Peter, MSuter, Frenk y Auckenthaler 1994).

Colonización Oral por Especies de *Candida*

Por estudios de tipificación molecular se ha demostrado que cada persona es colonizada por una cepa única de *Candida*, que persiste durante un tiempo prolongado y es responsable de las infecciones recurrentes. En la cavidad oral puede haber una amplia variedad de especies de *Candida*, las mismas que forman parte de la flora normal de la boca de un 40% de la población, pero la

más frecuente es, *C. albicans* en un 70% (Puerto, García-Martos, Márquez, García-Agudo y Mira, 2001; Bengel, 2010).

Debido a esto la candidiasis se origina de manera endógena por desequilibrio entre el huésped y la levadura que coloniza la cavidad oral. La candidiasis oral es la infección aguda de la membrana de la mucosa oral conocida como muguet que puede envolver todas las partes de la boca, las cuales se cubren de manchas confluentes compuestas de una pseudomembrana blanca cremosa o gris. Microscópicamente, el material blanco consiste de pseudomicelio y blastoconidias de *Candida* mezclados con detritos epiteliales, leucocitos y bacterias. En los casos no tratados el muguet puede extenderse hacia la faringe y al esófago. Glositis crónica o lesiones localizadas a los lados y debajo de la lengua son firmemente adherentes y ligeramente elevadas. La candidiasis oral a menudo se extiende a los ángulos de la boca en lesiones maceradas, fisuradas y erosionadas, húmedas con una base eritematosa conocidas como perleche y asociadas con deficiencia de riboflavina (Panizo y Reviákina, 2001; Pardi y Cardozo, 2002; Bengel, 2010)

Colonización Cutánea Especies de *Candida*

Las infecciones micóticas son causadas por hongos que viven en el cabello, las uñas y las capas externas de la piel. Entre las infecciones micóticas se pueden mencionar los hongos tipo moho (dermatofitos, los cuales causan infecciones por tiña) y los hongos levaduriformes (como *Candida*). En la candidiasis cutánea, la piel se infecta con los hongos del género *Candida* y es bastante común. La infección puede comprometer casi cualquier superficie de piel en el cuerpo, pero se presenta con mayor frecuencia en áreas cálidas, húmedas y con pliegues como las axilas y la ingle. El hongo que causa más a menudo la candidiasis cutánea es *C. albicans*. Es evidente que los hongos se aprovechan de las condiciones cálidas y húmedas. La infección por *Candida*

es particularmente común en individuos con diabetes y en personas obesas. Los antibióticos y los anticonceptivos orales (píldoras anticonceptivas) incrementan el riesgo de candidiasis cutánea (Mandel y col, 2009; Goldman, Kauffman y Schafer, 2011).

C. albicans continúa siendo el aislado clínico más frecuente, pero la emergencia de otras levaduras, principalmente aquellas que demuestran mayor resistencia a algunos antifúngicos, hace imprescindible la identificación rápida a nivel de especie de estos microorganismos. La incorporación de medios con sustratos cromogénicos ha sido un gran adelanto en la identificación presuntiva de levaduras, a la vez que ha permitido reconocer la presencia simultánea de 2 o más especies en una misma muestra clínica. La orientación acerca del microorganismo involucrado permite seleccionar el antifúngico más adecuado hasta que se realice la identificación definitiva. En efecto la fermentación y asimilación de compuestos de carbono son las pruebas más utilizadas en la identificación de levaduras (Freydiere, Guinet, y Boiron, 2001; Sánchez y Sáenz, 2006).

Colonización Tracto Gastrointestinal por Especies de *Candida*

El tracto gastrointestinal es frecuentemente colonizado por *Candida*. Su proliferación está controlada por varios factores. Hay evidencia considerable de que la flora bacteriana normal, aeróbica y anaeróbica, inhibe la proliferación de *Candida* en experimentos fuera del organismo *in vitro* en el tracto gastrointestinal de modelos animales y en aislados de mucosa intestinal. Los mecanismos que se postulan son competencia nutricional y competencia por el nicho ecológico o por sitios de adherencia. La acidez gástrica normal y la producción de componentes tóxicos como ácidos grasos volátiles y/o ácidos biliares secundarios provocan alteraciones desfavorables

en el microambiente para el crecimiento de patógenos (Panizo y cols 2001; Pfaller y Diekema, 2007).

Candidiasis

Las infecciones causadas por especies pertenecientes al género *Candida*, reciben el nombre de candidosis o candidiasis. Las infecciones superficiales por *Candida* son aquellas que afectan la piel, las uñas o las mucosas superficiales; pueden aparecer en personas con o sin factores predisponentes, aunque son más frecuentes en estas últimas. Las infecciones profundas son aquellos cuadros que tienen una localización no superficial y que afectan a pacientes con un alto grado de inmunodepresión o con otros graves factores desencadenantes (Panizo y Reviákina, 2001).

Mecanismos de Adherencia de *Candida*

La adherencia de *Candida* es el primer paso en la colonización e invasión de los tejidos mucocutáneos, la cual es probablemente mediada por la interacción de las glicoproteínas de superficie de la levadura con la célula epitelial del hospedero. Luego se produce la aparición de tubos germinales, micelio o pseudomicelio (según la especie), los cuales penetran directamente en la célula epitelial. La adherencia continúa con la producción de enzimas hidrofílicas como proteinasas, fosfatasas, y fosfolipasas. Una vez dentro de la célula epitelial los hongos proliferan. Generalmente las especies de *Candida* que no se adhieren son no patógenas (Casas, 1980; Hernández, González y rueda, 2010).

Varias categorías de adhesinas parecen estar involucradas en este proceso y de ellas, las interacciones tipo lectina, entre la porción proteica de la mananoproteína de *Candida* y un receptor con porciones de carbohidratos

en la superficie de la célula del hospedero, este parece ser el principal mecanismo de adherencia de *Candida* a las células epiteliales (García Martos, García Agudo, Domínguez y Noval, 2001)

Factores de Virulencia de Las Especies de *Candida*

La producción de factores de virulencia por parte de especies de *Candida* puede variar de acuerdo con el lugar y el grado de invasión, así como por la naturaleza de la respuesta del hospedero. Se ha demostrado la capacidad que tiene *Candida* de adherirse a las células de la vagina, del aparato digestivo y de la boca, a la fibronectina, a los coágulos de fibrina plaquetaria, al acrílico, al endotelio, a los linfocitos y a los plásticos (Mandell, Douglas y Bennett, 2005).

Para que este microorganismo comensal del ser humano se convierta en patógeno es necesario que exista una interrupción de los mecanismos normales de defensa. Los factores responsables de este compromiso inmunitario suelen ser de origen iatrogénico (quimioterapia, inmunosupresión, catéteres endovasculares). Las infecciones por *Candida*, principalmente las invasivas, se desarrollan en el contexto de enfermedades graves y con frecuencia son concomitantes con otras causadas por otros patógenos oportunistas tales como: *Staphylococcus aureus* resistente a metilicina, *Clostridium difficile*, bacilos gramnegativos y enterococos (Pontón, Regúlez, Quindós, y Cisterna, 1990; Castrillón, Palma y Padilla, 2005).

La presencia de *C. albicans* en determinados procesos infecciosos, está dada por la existencia de ciertos factores predisponentes. En este sentido McGinnis y Tilton, (1994) expone los siguientes factores:

- Daño en la integridad de la piel por maceración de sus tejidos, heridas, abrasión por quemaduras térmicas o químicas y por presencia de catéteres vasculares.
- Alteración de la barrera mucocutánea por diabetes, uso de agentes antimicrobianos, irritación por incidencia de humo, uso de drogas citotóxicas, corticoides, realización de vagotomía resultando un aumento del pH gástrico, entubaciones nasogástricas o diafragmas.
- Desbalance nutricional u hormonal provocado por diabetes, anticonceptivos orales, preñez, malnutrición y uremia.
- Disminución del número de células fagocitarias como resultado de leucemia, granulomatosis, aplicación de radiaciones o quimioterapia contra el cáncer.
- Defectos intrínsecos en las funciones de las células fagocitarias como resultado de enfermedades granulomatosas crónicas y deficiencia de mieloperoxidasa.
- Alteración de la función fagocitaria causada por uremia, enfermedades virales y el uso de corticoides y agentes antimicrobianos como aminoglucósidos y sulfamidas.

Diagnostico Micológico de Laboratorio

Actualmente se están produciendo avances importantes que permiten un diagnóstico más rápido y eficiente, como son la detección de antígenos y/o anticuerpos y las técnicas de biología molecular, algunos de las cuales ya se están implementando en los laboratorios. No se deja de lado los métodos convencionales que tienen gran utilidad y aportan información importante a la sospecha clínica, teniendo en cuenta factores básicos como una adecuada

obtención de la muestra, un pronto envío y el procesamiento de la misma (Linares, Solís, Pemán, Mazuelos y Calvo 2001).

La identificación de la especie de la levadura aislada en sangre o en cualquier otro líquido corporal estéril está plenamente justificada. Sin embargo, debido a que los organismos levaduriformes forman parte de la flora normal de piel y mucosas, el aislamiento de levaduras a partir de hisopos nasofaríngeos, esputo, lavados bronquiales, orina, raspados de uñas, muestras vaginales o heces puede cuestionar su significado clínico. No obstante, el aislamiento reiterado de levaduras en diferentes muestras clínicas del mismo paciente es sugestivo de infección por el microorganismo aislado y requiere la identificación de la especie causal. La identificación de las levaduras se puede realizar atendiendo a cuatro criterios diferentes: morfológicos, bioquímicos, inmunológicos o genéticos (Mavor, Thewes y Hube, 2005).

Actualmente, existen pruebas especiales que permiten la tipificación de las especies de *Candida* y su diferenciación con otros géneros. Como es el caso de diferenciar a *C. albicans* de *C. dubliniensis* se sugiere la determinación del tipo de clamidosporas que producen, observar la coloración de las colonias con medios diferenciales como *Candida* CHROMagar® y el agar Sabouraud azul de metilo, así como comprobar la inhibición del crecimiento a 42 °C entre otras, lo que constituyen características distintivas de *C. dubliniensis*. No obstante, las pruebas más confiables para distinguir a ambas especies son las basadas en técnicas moleculares (Trujillo, Guilarte y Pardi, 2006; Canton, García, Martín, Pemán y Guinea, 2013).

A continuación se describen las principales pruebas de identificación para las distintas especies de *Candida*:

Estudio Morfológico

El estudio morfológico de este género comprende la evaluación microscópica (presencia o ausencia de levaduras, hifas, pseudohifas, tubo germinal, clamidosporas) y macroscópica (color, aspecto, bordes y tamaño de las colonias). Es conveniente mencionar que las técnicas de cultivo suelen ser más sensibles, ya que la microscopía directa requiere de la existencia de un número significativo de levaduras. (Guilarte y Pardi, 2009).

Formación de Clamidoconidias

Esta prueba se realiza en medios pobres como fermentación en harina de maíz (Corn Meal), Bilis Agar, Agar papa zanahoria, Agar caseína, Agar tomate, entre otros, estos son incubados por 72 horas a 25°C. Las clamidoconidias son formas de resistencia, redondas u ovals, de 6-12 µm de diámetro y pared gruesa, con aspecto de esporas, presentes en las pseudohifas. Pueden ser laterales o terminales, en acúmulos, pares o tripletas estas son formadas por las especies *C. albicans* y *C. dubliniensis* (Trujillo, Guilarte y Pardi, 2006).

Agar Cromogénico para *Candida* spp

El medio CHROMagar® *Candida* descrito por Odds y Barnaerts en 1994, ha mostrado un 100% de sensibilidad y especificidad en la identificación de *C. albicans* y *C. tropicalis*; también ha sido referida la identificación de *C. glabrata* y *C. krusei* (Mavor y cols, 2005).

El Agar cromogénico es un medio selectivo y diferencial disponible comercialmente. Contiene como base glucosa y peptona, la selectividad es dada por el cloranfenicol. Además posee una mezcla de sustratos

cromógenos que liberan unos componentes coloreados diferentes cuando son degradados por enzimas específicas producidas por ciertas especies de *Candida*. Este medio permite el desarrollo de las especies más comunes de *Candida* y hongos levaduriformes mediante la formación de colonias coloridas diferenciadas: *C. albicans* (verde claro), *C. dubliniensis* (verde oscuro), *C. tropicalis* (azul oscuro), *C. krusei* (violeta pálido), *C. glabrata* (violeta intenso), otras especies de *Candida* spp (blanco-crema), *Trichosporon* spp (azul-gris) y *Geotrichum* spp (violeta) (Estrada, Dávalos, Flores, Mendoza y Sánchez, 2011).

Auxonograma (Perfil de Asimilación de Azúcares)

El Auxonograma convencional aplica por separado diferentes nutrientes sobre un medio sintético para apreciar el crecimiento de la levadura en estudio. Esta prueba pone en evidencia la utilización de los distintos nutrientes, ya sean hidratos de carbono o compuestos nitrogenados (peptona, y nitrato de potasio), y a partir del requerimiento nutricional se realiza la identificación (Linares y cols, 2001; Mavor y cols, 2005).

Este método se basan en utilización de carbohidratos como (glucosa, lactosa, sacarosa, maltosa, galactosa, urea, rafinosa y formación de película) permiten identificar las diferentes especies de *Candida* spp, además *Criptococcus*, *Saccharomyces* y *Malassezia*. Se realiza a partir de colonias diferenciadas de 24 h de crecimiento, utilizando sistemas comerciales de identificación como el API 20C AUX (método manual) o Vitek System (método automatizado, bioMerieux, Francia). Cada especie de *Candida* posee un perfil bioquímico que la identifica. Se caracteriza por ser el método más utilizado para la identificación de estos géneros (Linares y cols, 2001; Guilarte y cols, 2009).

Zimograma (Fermentación de Carbohidratos)

En este caso el término fermentación se refiere a la degradación anaeróbica de carbohidratos, ya que estos almacenan gran cantidad de energía, la capacidad de fermentar depende de las enzimas de microorganismos, y a menudo fermentan carbohidratos a ácidos orgánicos y gas (H_2 o CO_2). Estos pueden detectarse incluyendo en el medio un indicador de pH (Guilarte y cols, 2009).

Las propiedades fermentativas de cada especie de *Candida* son características y se demuestran por la producción de ácido y de gas, algunas especies no producen enzimas. La acidez se demuestra por el cambio de color del indicador de pH, de verde a amarillo y, cuando hay producción de gas, este se acumula en el tubo. (Silva, 2005; Guilarte y cols, 2009).

Tubo Germinal

Es una prueba útil para diferenciar *C. albicans* y *C. dubliniensis* de *Candida* no *albicans*. Esta prueba se realiza a partir de una colonia fresca (24-48 h de crecimiento) utilizando plasma fresco o suero humano con glucosa incubando a 37 °C por máximo 3 horas. El tubo germinal es una extensión filamentosa de la levadura, sin estrechamiento (constricción) en su sitio de unión con la blastoconidia, que da lugar a hifas verdaderas. Sólo *C. albicans* y *C. dubliniensis* son capaces de producir verdaderos tubos germinales; sin embargo, otras especies como *C. tropicalis* pueden producir pseudohifas de aspecto similar a los tubos germinales pero con blastoconidias más grandes que las de *C. albicans*. Para considerar una prueba como positiva deben observarse más de 5 tubos germinales (Trujillo y cols, 2006; Tangarife, 2011).

Pruebas de Termotolerancia

La termotolerancia consiste en el crecimiento a 37°, 42° y 45°C, se ha descrito que *C. dubliniensis* puede diferenciarse de *C. albicans* por ausencia de crecimiento a 45°C; sin embargo, hallazgos más recientes demuestran que algunos aislados de *C. dubliniensis* tienen capacidad de crecer a 42° y 45°C (Guiliarte y Pardi 2009).

Pruebas de Biología Molecular

Son herramientas de alto potencial tanto para el diagnóstico como para la identificación y clasificación taxonómica de microorganismos. En los últimos años, los métodos de biología molecular se han aplicado al análisis de diferentes especies de *Candida*. La determinación del cariotipo mediante electroforesis de campo pulsátil (PFGE), la hibridación con sondas, la detección del polimorfismo de los fragmentos de restricción (RFLP), la amplificación del ADN mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y la reacción de cadena ligasa (LCR) y posterior hibridación por Southern, son los más empleados para el estudio e identificación de las especies de *Candida* (Orbera, 2004; Trujillo y cols, 2006; Mendoza, 2005).

Definición de Términos

Hisopado

El hisopado es una de las técnicas preferidas a la hora de tomar muestras de algunos sitios anatómicos como mucosas y zonas cutáneas, este método permite el análisis de la microbiota; no es invasivo. Como ejemplo, en un hisopado bucal el método consiste en introducir un hisopo de algodón en la boca de la persona que desea participar en el análisis y frotar el hisopo contra las paredes internas de la mejilla de la persona a fin de obtener una buena muestra de la mucosa bucal que se encuentra alojada allí (Bulacio, y cols, 2010)

Flora Habitual

Se habla de flora normal para referirnos a aquellos microorganismos que habitualmente encontramos sobre la superficie o en el interior del cuerpo de las personas sanas. La flora normal se adquiere con rapidez durante el paso por el canal del parto y poco después del nacimiento. Los microorganismos se encuentran en aquellas partes del cuerpo expuestas al medio ambiente o que comunican con él como piel, nariz, boca, intestino y tracto urogenital. Los órganos y tejidos internos son habitualmente estériles (Montiel, 1997).

Colonización

Es el establecimiento y proliferación de un microorganismo en el huésped sin causar enfermedad, ocupando un espacio o nicho ecológico. Los microorganismos tienen capacidad de llegar a la superficie del huésped por una puerta de entrada (piel o mucosas), formar o establecer una colonia en

el epitelio y resistir la acción de los sistemas locales de defensa (Montiel, 1997)

Cultivo Microbiológico

Es un método fundamentalmente empleado para la multiplicación de microorganismos como bacterias, hongos y parásitos que causan enfermedades. El cultivo permite proporcionar a dichos microorganismos las condiciones físicas, químicas y nutritivas adecuadas para que puedan multiplicarse de forma controlada. En general, podemos distinguir cultivos líquidos y sólidos, en función de las características del medio; y cultivos discontinuos y continuos, en función de la disponibilidad de nutrientes en el medio (Mavor y cols, 2005; Cantón y cols, 2013).

bdigital.ula.ve

Adherencia

Se denomina así a la capacidad de los microorganismos de adherirse a la barrera cutánea y las mucosas, alcanzar los tejidos subyacentes y ponerse en contacto con el medio interno del huésped, manifestando su acción patógena. Es decir tienen la capacidad de favorecer la difusión de la infección microbiana en el organismo y esto se debe, a la producción de algunos metabolitos, enzimas y otras sustancias, ya sea interfiriendo en los mecanismos defensivos del huésped o facilitando la penetración del microorganismo (Calderóne y Braum, 1991; Montiel, 1997; Peman, Bosh, Canton, Viudes, Jarque y Gomez, 2008).

Clamidioconidia

Es un tipo espora fúngica de paredes gruesas resistentes a factores ambientales. Son el resultado de la reproducción asexual, mediante los conidios llamados clamidoconidios, o raramente, por reproducción sexual. Las clamidosporas son generalmente de color oscuro, esférica, de superficie lisa (sin ornamentos). Son multicelulares, con las células conectadas entre ellas por poros interiores. Estas son características de *C. albicans* (Casas, 1980; Calderóne y Braum, 1991).

bdigital.ula.ve

Tabla 1. Operacionalización del Evento de Estudio: Colonización de la Mucosa Oral y de Piel de los Estudiantes

EVENTO	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADOR
Colonización de la mucosa oral y de piel de los estudiantes	Flora microbiana en dos o más sitios anatómicos. En este caso <i>Candida</i> spp en la piel y/o en membranas mucosas	A partir de un hisopado de piel y de mucosa oral se realiza el examen directo y el cultivo	Colonización de la mucosa oral y de piel de los estudiantes	Crecimiento positivo de las muestras en los medios de cultivo
	(Mendoza y cols 2005)		Ausencia de colonización de la mucosa oral y de piel de los estudiantes	Ausencia de crecimiento de las muestras en los medios de cultivo

Fuente: Villamizar y Carrero (2013)

Tabla 2. Operacionalización del Evento de Estudio: Especies de *Candida* Colonizantes

EVENTO	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADOR
Especies de <i>Candida</i> como colonizantes	Especies de <i>Candida</i> como flora habitual en individuos (Murray y cols 2002)	Aislamiento e identificación de especies de <i>Candida</i>	Presencia de especies de <i>Candida</i> en los estudiantes	Evidencia de estructuras fúngicas sugestivas de <i>Candida</i> spp.
			Ausencia de especies de <i>Candida</i> en los estudiantes	Ausencia de estructuras fúngicas sugestivas de <i>Candida</i> spp.

Fuente: Villamizar y Carrero (2013)

Tabla 3. Operacionalización del Evento de Estudio: Edad de los Estudiantes de Micología Sujetos al Estudio de Colonización por Especies de *Candida*

EVENTO	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADOR
Edad	Cantidad de años de un individuo (Real Academia Española)	Estudiantes entre 20 y 30 años sujetos a estudio.	Presencia de especies de <i>Candida</i> colonizantes.	Colonización en la edad de la población estudiada.

Fuente: Villamizar y Carrero (2013)

bdigital.ula.ve

Tabla 4. Operacionalización del Evento de Estudio: Género de los Estudiantes de Micología Sujetos al Estudio de Colonización por Especies de *Candida*

EVENTO	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADOR
Género	Distinción de sexo biológico (Real Academia Española)	Género de los estudiantes colonizados.	Femenino	Presencia en el género femenino de colonización por las especies de <i>Candida</i>
			Masculino	Presencia en el género masculino de colonización por las especies de <i>Candida</i>

Fuente: Villamizar y Carrero (2013)

Tabla 5. Operacionalización del Evento de Estudio: Tratamiento con Antimicrobianos (antibióticos o antimicóticos) en los Estudiantes de Micología Sujetos al Estudio de Colonización por Especies de *Candida*

EVENTO	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADOR
Tratamiento con antimicrobianos (antibióticos o antimicóticos).	Administración de tratamientos antimicrobianos (Pontón y cols 1990)	Estudiantes bajo Ingesta de antimicrobianos	Reciben tratamiento	Colonización por especies de <i>Candida</i> bajo administración de antimicrobianos
			No reciben tratamiento	Colonización por especies de <i>Candida</i> sin el consumo administración de antimicrobianos

Fuente: Villamizar y Carrero (2013)

Tabla 6. Operacionalización del Evento de Estudio: Exámenes Directos de las Muestras de Hisopado en los Estudiantes de Micología Sujetos al Estudio de Colonización por Especies de *Candida*

EVENTO	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADOR
Exámenes directos de las muestras de hisopado de piel y mucosa oral.	Observación de estructuras fúngicas sugestivas de <i>Candida</i> (Salazar y Sacsquispe 2005)	Observación de las estructuras fúngicas (blastoconidias, hifas y/o pseudohifas) de <i>Candida</i>	Examen directo positivo	Observación de Blastoconidias, hifas y/o pseudohifas de <i>Candida</i> en el examen directo
			Examen directo negativo	Ausencia de Blastoconidias, hifas y/o pseudohifas de <i>Candida</i> en el examen directo

Fuente: Villamizar y Carrero (2013)

Tabla 7. Operacionalización del Evento de Estudio: Pruebas de Identificación de las Diferentes Especies de *Candida* Colonizantes en los Estudiantes de Micología

EVENTO	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADOR
Pruebas de identificación de especies de especies	Identificación de especies de <i>Candida</i> aisladas (Tangarife, 2011)	Identificación de especies de <i>Candida</i> en los diferentes medios de cultivo: cromogénico CHROMagar®, Bilis Agar, Corn Meal,	Presencia de especies de <i>Candida</i> identificadas de acuerdo a la prueba de identificación.	Color de la colonia, morfología microscópica, producción de clamidoconidias, filamentización.
		pruebas de termotolerancia	Ausencia de especies de <i>Candida</i> en las pruebas de identificación.	Ausencia de viraje y ausencia de estructuras fúngicas sugestivas de <i>Candida</i>

Fuente: Villamizar y Carrero (2013)

CAPITULO III

MARCO METODOLOGICO

Enfoque de la investigación

Hernández, Fernández y cols. (2010) refieren que existen dos tipos de enfoques de investigación: el cualitativo y el cuantitativo. La investigación de enfoque cuantitativo es propia de la investigación experimental. Esta se basa en la generación de hipótesis que contengan variables medibles, las cuales han sido analizadas y profundizadas como parte del plan de investigación. Debido a esto, la presente investigación realizada es un estudio que presenta un enfoque investigativo, de tipo cuantitativo, en el cual se ha reflejado, mediante cálculos estadísticos, las distintas especies de *Candida*, como colonizantes presentes en los estudiantes de Micología. Se considera que estas levaduras no son permanentes y que forma parte de la microbiota comensal la cual puede variar por condiciones higiénicas o factores ambientales. El estudio cuantitativo de la flora puede ser de interés para diferenciar entre colonización e infección.

Tipo de investigación

Hernández, Fernández y cols. (2010), refieren que es posible encontrar diferentes tipos de investigación, como: estudios exploratorios, descriptivos, correlacionales y explicativos basándose en la estrategia de investigación que se emplea; ya que el diseño, los datos que se recolectan, la manera de obtenerlos, el muestreo y otros componentes del proceso

de investigación son distintos. De igual manera el tipo de investigación se refiere a la clase de estudio que se va a realizar, orienta sobre la finalidad del estudio y sobre la manera de recoger la información o datos necesarios, y se toma en cuenta los siguientes tipos como: investigación de campo, investigación pre-experimental, cuasiexperimental y documental (Palella y cols (2010)).

Partiendo desde los puntos de vista teóricos, la presente investigación corresponde a un estudio de campo de carácter transversal, descriptivo y exploratorio realizado a los estudiantes de Micología, por consiguiente debido al requerimiento de datos, se realizó el análisis de diferentes muestras recolectadas en un periodo no más de 24 horas usando las técnicas de cultivo en Agar Sabouraud Dextrosa con antibiótico, cultivo de Bilis Agar, CHROMagar® *Candida*, filamentación en Agar harina de maíz (Corn Meal) y prueba de termotolerancia a 37°C y 45°C; para distinguir las diferentes especies de *Candida* colonizantes en los estudiantes de Micología.

Diseño de la investigación

Según Palella y Martins (2010) establecen que el diseño de la investigación se refiere a la estrategia o plan que adopta el investigador para responder al problema planteado en el estudio, considerando su clasificación en: diseño experimental, no experimental y bibliográfico. Según esta información, para este trabajo de campo se utilizó un diseño no experimental, ya que no se realizó manipulación de las diferentes variables, siendo además una investigación descriptiva debido al análisis e interpretación de datos, y un estudio transeccional, ya que los datos se obtuvieron en un solo momento y en un determinado tiempo.

Población y muestra

Unidad de investigación

Arias, (2012) refiere que la investigación tiene como propósito el estudio de un conjunto numeroso de objetos, individuos e incluso documentos donde a dicho conjunto se le denomina población, la cual puede estar agrupada de manera finita e infinita en relación a los elementos que la conforman, con características comunes sujetas a extensivas conclusiones de la investigación, siendo delimitada por el problema y por los objetivos de estudio.

Según el punto de vista teórico, en la presente investigación la población se encuentra agrupada de manera finita debido a que se conoce la cantidad de población muestreada, donde dicha unidad de investigación estuvo constituida por 63 estudiantes de la asignatura de Micología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad de Los Andes, en el periodo U-2012.

Muestra

La muestra constituye un subconjunto representativo y finito que se extrae de la población accesible, la cual permite hacer inferencias o generalizar los resultados al resto de la población (Arias, 2012).

Partiendo de lo anteriormente descrito, la muestra de la presente investigación fue tomada realizando un hisopado de mucosa oral mediante un frotis de las paredes de la cavidad bucal y un hisopado de la piel a nivel del pliegue del antebrazo a cada uno de los 63 estudiantes de Micología.

Criterios de inclusión

Se incluyó a los estudiantes cursantes de la asignatura de Micología, del periodo U-2012, con edad comprendidas entre 20 y 30 años, tomándose en cuenta ambos géneros, sin patología bucal aparente; y que firmaron el consentimiento informado (anexo 1).

Criterios de exclusión

Se excluyó a los estudiantes que presentaron los siguientes criterios: menores de 20 años, mayores de 30 años; los que presentaran evidencia de lesiones en mucosa oral; y los que no firmaron el consentimiento informado.

Selección de la muestra

Las muestras de la investigación se tomaron de manera probabilísticas y de forma intencional, debido a que se realizó estimaciones de las variables con base a criterios establecidos con respecto a la población, estas variables se midieron y se analizaron mediante cálculos estadísticos, considerando que la población en estudio presentaba una misma probabilidad de ser colonizados. La muestra se obtuvo mediante los hisopados de mucosa oral y de piel de los estudiantes de Micología.

Sistema de variables

Las variables son elementos que guardan relación con el propósito de la investigación siendo posible medirlas o cuantificarlas. Según sus características estas pueden ser: variable independiente, dependiente e interviniente (Palella y Martins 2010).

En la presente investigación las características estudiadas, son las siguientes: colonización por especies de *Candida* en la mucosa oral y en la piel de los estudiantes de Micología.

La variable dependiente estuvo representada por la colonización de la mucosa oral y la piel de los estudiantes. Mientras que la variable independiente está representada por las diferentes especies de *Candida* como colonizantes, por último la variables intervinientes se encuentran representadas por los parámetros demográficos de los estudiantes de Micología: edad y género, el uso de antimicrobianos: antibióticos y antimicóticos; exámenes directos de las muestras de hisopado, y las pruebas de identificación de especies de *Candida*.

Instrumento de Recolección de Datos

Para la recolección de datos se llenó una ficha tomando en cuenta los datos personales como: nombre del estudiante, edad, género, ingesta de antimicrobianos: antibióticos o antimicóticos, tipo de muestra que se tomó: hisopado oral e hisopado de piel; y el consentimiento informado a cada estudiante donde otorgaron el permiso para formar parte del estudio (ver anexo 1 y 2).

Metodología de la investigación

Estudio clínico- epidemiológico

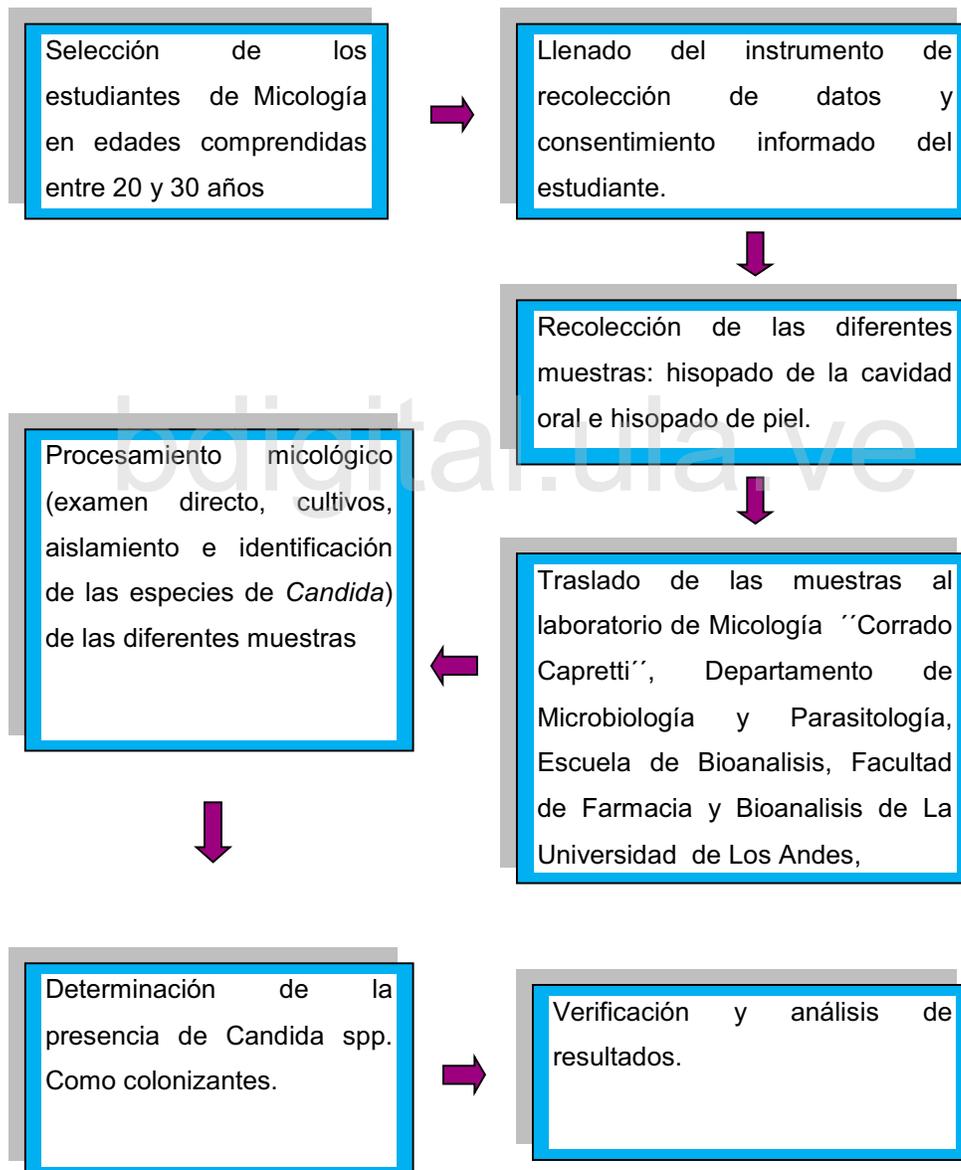
La metodología de esta investigación comprende un conjunto de procedimientos que se realizaron partiendo desde la obtención de datos, a través de un instrumento de recolección (anexo 1); un consentimiento firmado por el estudiante (anexo 2), la toma de las muestras, el transporte y

procesamiento de las mismas, para el aislamiento e identificación de *Candida* spp como colonizantes, los cuales se llevaron a cabo mediante las técnicas de cultivo, aislamiento e identificación en el Laboratorio de Micología "Corrado Capretti", Departamento de Microbiología y Parasitología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad de Los Andes (Esquema 1).

Recolección y transporte de las muestras

A todos los estudiantes que formaron parte del estudio, se les tomó las muestras en el momento del ingreso a las clases de Micología mediante un hisopado oral, el cual se realizó raspando de las paredes de la cavidad oral y un hisopado de piel a nivel del pliegue del antebrazo, con la ayuda de hisopos estériles previamente humedecidos con Solución Salina Fisiológica Estéril (SSF), estos se colocaron en tubos de ensayos con 2ml de la mencionada solución, con su correspondiente rotulación. Finalmente las muestras se llevaron de manera inmediata al Laboratorio de Micología, "Corrado Capretti", Departamento de Microbiología y Parasitología, Escuela de Bioanálisis, Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad de Los Andes, para su respectivo procesamiento.

Esquema 1. Flujograma de la metodología realizada en la recolección de los datos clínico-epidemiológicos, la identificación de las especies de *Candida* como colonizantes de la mucosa oral y de piel en los estudiantes de Micología.



Aislamiento e identificación de *Candida* spp

El procesamiento micológico de las muestras se realizó mediante varias etapas: examen directo de la muestra, cultivo cuantitativo en Agar Sabouraud dextrosa con cloranfenicol, identificación utilizando los siguientes métodos: cromogénico CHROMagar® *Candida*, prueba de clamidioconidias en bilis Agar, filamentación en agar harina de maíz (Corn Meal) y pruebas de termotolerancia a 37°C y 45°C.

Examen directo

Se realizó tomando dos (2) gotas de la SSF contentiva de la muestra colocándola entre lámina y laminilla en búsqueda de la presencia de estructuras fúngicas como: levaduras, blastoconidias, hifas o pseudohifas. Se realizó un examen directo por cada muestra obtenida.

Cultivo de la muestra

Se procedió a la siembra de la muestra en Agar Sabouraud dextrosa con cloranfenicol y sin cicloheximida. Se incubaron a una temperatura de 25 a 30°C durante cinco días, periodo en el que se desarrollaron colonias cremosas blanco-amarillentas, lustrosas, poco elevadas y de bordes bien definidos. Posteriormente se procedió a la descripción macroscópica: (color, consistencia, tamaño, contextura) de las colonias sugestivas de levaduras, y luego se realizó un examen directo de las colonias entre lamina y laminilla con solución de azul de metileno para la observación de las características microscópicas (blastoconidias).

Método de identificación en medio cromogénico

El medio cromogénico CHROMagar® *Candida* se preparó según las instrucciones de la casa comercial Himedia. Se dispuso en placas de petri estériles. Posteriormente a su preparación y condicionamiento se procedió a la siembra de la levadura a identificar. Mediante un asa en aro se colocó una pequeña cantidad considerable de levadura (con 24 horas de crecimiento), sobre el medio cromogénico. Se incubó a 37°C durante 48 horas. Luego se observó el color producido por las distintas especies de *Candida* colonizantes de la población sometida a estudio, donde *C. albicans* produjo colonias lisas de color verde o azul brillante, *C. parapsilosis* se observaron en colonias de color marrón claro, *C. krusei* colonias color rosado claro, *C. guilliermondii* colonias de color morado claro y *C. glabrata* colonias de color beige o amarillo.

Medio de cultivo Bilis-Agar

Se realizó la siembra, con un asa, de una parte de la colonia en el medio Bilis-Agar. Se incubó a 28° C por 48 a 72 horas en condiciones de aerobiosis. Se procedió posteriormente a observar microscópicamente la formación de esporas asexuales, de paredes gruesas y refringentes, llamadas clamidioconidias, que pueden estar intercaladas o en posición terminal de las hifas tabicadas o septadas.

Filamentación en Agar Harina de Maíz

El cultivo de levaduras en Agar harina de maíz favorece la formación de pseudohifas y blastoconidios, de modo que puede hacerse en la identificación presuntiva de especies de *Candida*. La inoculación se realizó,

según la técnica de Dalmau, haciendo tres cortes paralelos en el Agar (separados 0,5 cm) manteniendo el asa en un ángulo aproximado de 45°. Se colocó cubreobjetos sobre la superficie del Agar cubriendo una parte de las estrías de la siembra, con el objetivo de disminuir la tensión superficial y el oxígeno del medio, las placas se incubaron a 30 °C durante 24 a 48 horas, luego se examinaron al microscopio a través del cubreobjetos con los objetivos de 10X y 40X.

Prueba de Termotolerancia

La termotolerancia consiste en el crecimiento de las levaduras a 37°, 42° y 45°C cuyo objetivo es diferenciar *C. albicans* de *C. dubliniensis*. Por consiguiente se procedió a la siembra de las muestras en Agar Sabouraud dextrosa con cloranfenicol y sin cicloheximida a partir de colonias frescas de 24 horas de incubación, luego de realizada la siembra se incubaron a una temperatura de 37°C y a 45°C durante 48 horas, posteriormente se procedió a observar el crecimiento de las levaduras a distintas temperaturas para su identificación.

Diseño de Análisis

Los datos se analizaron según el diseño multivariante, dicotómico, multifactorial, bicategorico a través del software estadístico SPSS (versión 15.0). El análisis estadístico se realizó en 2 fases: (a) de forma descriptiva es decir por medio de frecuencias simples, porcentajes simples válidos y acumulados. (b) a través de análisis de contingencia y su relación de parámetros.

CAPITULO IV

RESULTADOS Y DISCUSION

Resultados

La realización del estudio tuvo una duración de 6 meses; donde se tomó muestra a 63 estudiantes pertenecientes a la cátedra de Micología, de los cuales se obtuvo 22 colonizados por distintas especies de *Candida*; cabe destacar que la población en estudio fue de edades comprendidas entre 20 y 30 años, tomándose en cuenta ambos géneros. Se tomaron un total de 126 muestras, es decir 63 de piel y 63 de cavidad oral cuyo procesamiento y análisis de las muestras fue realizado en el laboratorio de Micología “Corrado Capretti” adscrito al Departamento de Microbiología y Parasitología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Escuela de Bioanálisis de la Universidad de los Andes, durante el periodo U-2012.

Distribución de la muestra poblacional según la variable de colonización

La variable bicatagórica colonización fue categorizada obteniendo las siguientes frecuencias absolutas y relativas: estudiantes colonizados un total de 22 (35%) y no colonizados 41 (65%) (Figura 1).

Distribución de la muestra poblacional según el sitio anatómico de colonización: piel y cavidad oral

La muestra fue tomada mediante un hisopado de piel y uno de cavidad oral a cada estudiante. Esta variable fue categorizada obteniendo las siguientes frecuencias absolutas y relativas: colonización de la piel 4 muestras (18,2%) y colonización de cavidad oral 18 muestras (81,8%) (Figura 2).

Distribución de la muestra poblacional según la presencia de especies de *Candida* aisladas

En el estudio las especies que se encontraron colonizando a la población fue categorizada obteniendo las siguientes frecuencias absolutas y relativas: *C. albicans*, resultado 7 muestras positivas con frecuencia de 32% seguido por *C. krusei* con 5 muestras (23%), *C. parapsilosis* con 5 muestras (23%), *C. guilliermondii* con 3 muestras (13%) y *C. glabrata* con 2 muestras (9%) (Figura 3).

Distribución de la muestra poblacional según la presencia de especies de *Candida* y la cavidad oral

Con respecto a esta variable, de los 63 hisopados tomados de la cavidad oral, solo 18 muestras resultaron positivas al crecimiento por las distintas especies de *Candida* por lo que esta variable fue categorizada obteniendo las siguientes frecuencias absolutas y relativas: *C. albicans* con 7 aislamientos positivos con una frecuencia de 39% seguida por 4 aislamientos

de *C. krusei* (22%), 3 de *C. guilliermondii* (17%), 2 de *C. parapsilosis* (11%) y 2 de *C. glabrata* (11%) (Figura 4).

Distribución de la muestra poblacional según la presencia de especies de *Candida* y la piel

Del mismo modo de los 63 hisopados de piel tomados del antebrazo de cada uno de los estudiantes, resulto positivos al crecimiento de *Candida*, un total de 4 muestras, dicha variable fue categorizada obteniendo las siguientes frecuencias absolutas y relativas: *C. parapsilosis* 3 (75%) y *C. krusei* 1 (25%) (Figura 5).

Análisis de contingencia multivariante entre las especies de *Candida* y los sitios de colonización: cavidad oral y la piel

Se observó la presencia de especies de *Candida* en los diferentes sitios colonizados, el análisis mostró las siguientes tendencias: mayor colonización en cavidad oral 18/22 (81,82%) con predominio de *C. albicans*, al respecto de otras especies y con tendencia de menor colonización en piel 4/22 (18,18%) pero con predominio de *C. parapsilosis* en cuanto a otras especies de *Candida* (Tabla 8).

Análisis de contingencia multivariante entre colonización, las especies de *Candida* y la edad de los estudiantes

Respecto a la presencia de especies de *Candida* en las diferentes categorías de grupos de edades, el análisis mostró las siguientes frecuencias absolutas y relativas: en estudiantes de edades comprendidas de 20-25 años se presentó mayor tendencia de colonización 19/22 (86,36%), y en edades

comprendidas de 25-30 años 3/22 (13,64%) con mayor predominio de *C. albicans* con respecto a otras especies (Tabla 9).

Análisis de contingencia entre las especies de *Candida* aisladas y la administración de antimicrobianos o antimicóticos

La administración de antimicrobianos o antimicóticos con respecto a las especies de *Candida* aisladas fue categorizada obteniendo las siguientes frecuencias absolutas y relativas: 1/22 (4,55%) se encontraba tomando antimicrobianos mientras 21/22 (95,45%) no se encontraban bajo consumo de antimicrobianos o antimicóticos (Tabla 10).

bdigital.ula.ve

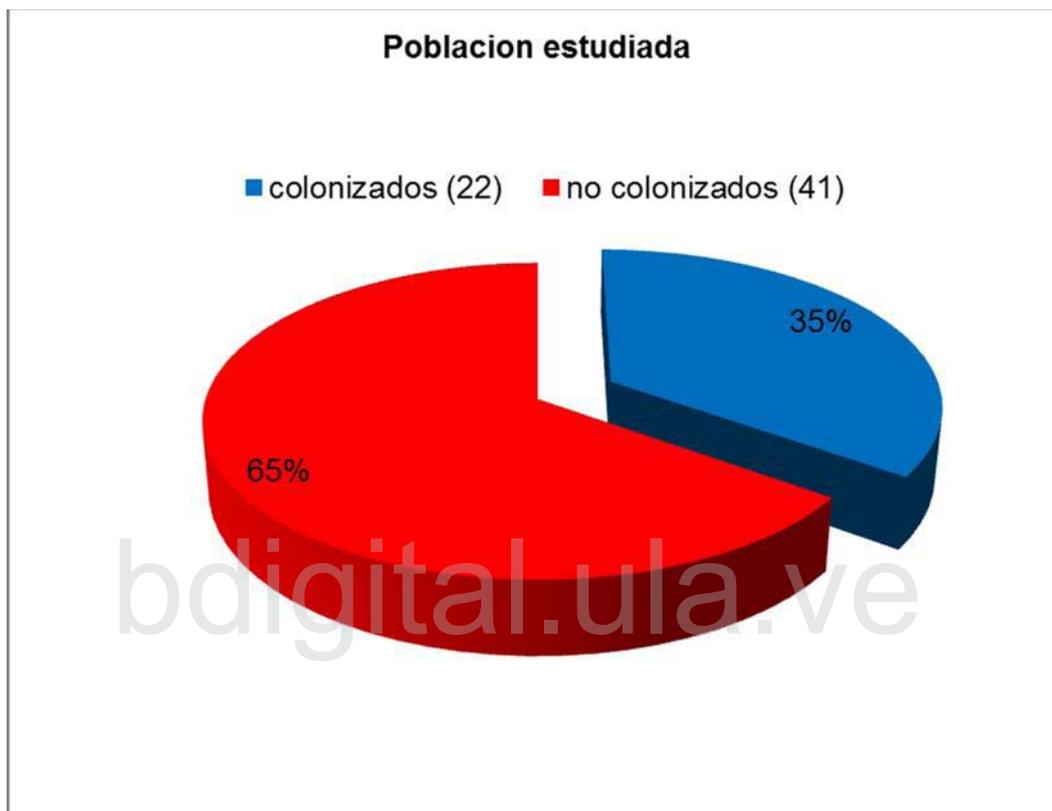


Figura 1. Distribución de frecuencia de estudiantes colonizados y no colonizados, pertenecientes a la Cátedra de Micología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad De Los Andes, en el periodo U-2012.

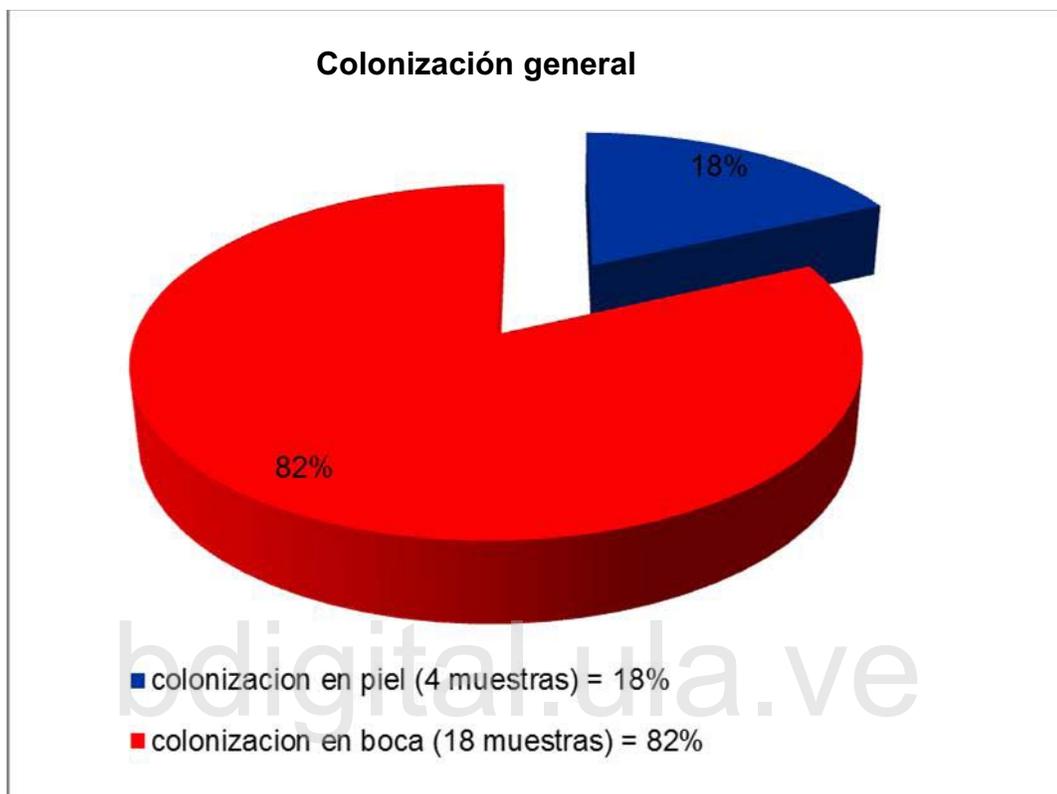


Figura 2. Distribución de frecuencia de colonización en la cavidad oral y la piel de los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad De Los Andes, en el periodo U-2012.

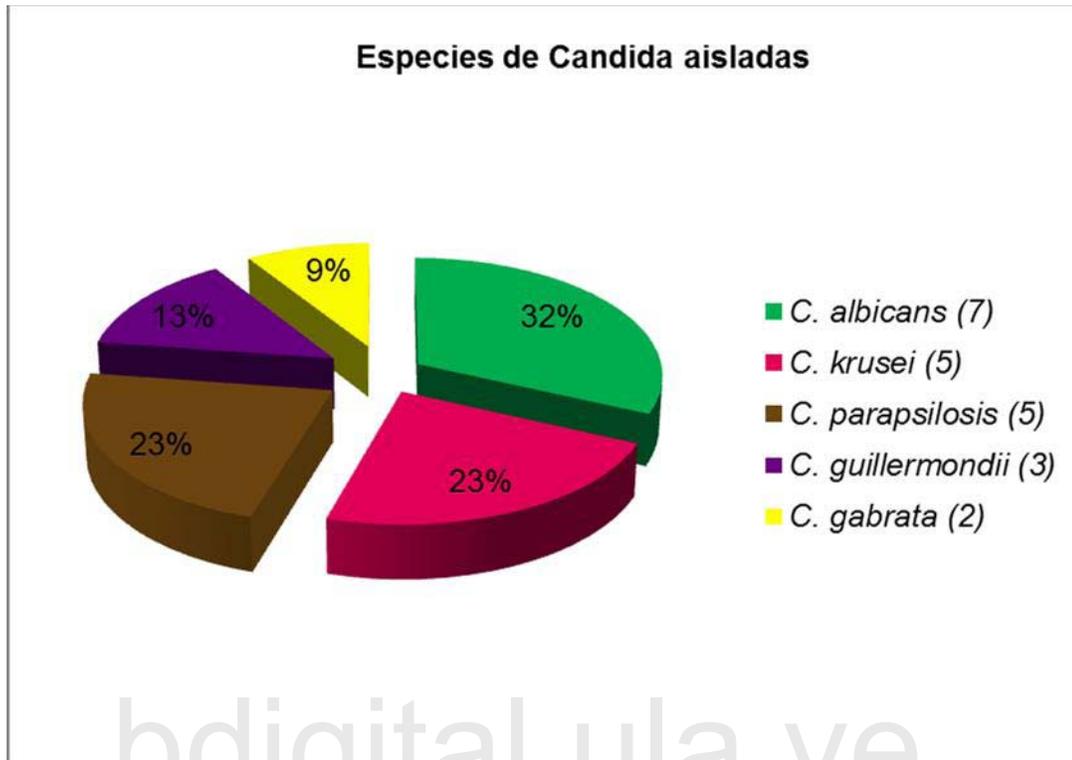


Figura 3. Distribución de frecuencia de Especies de *Candida* colonizantes como flora habitual de los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad De Los Andes, en el periodo U-2012.

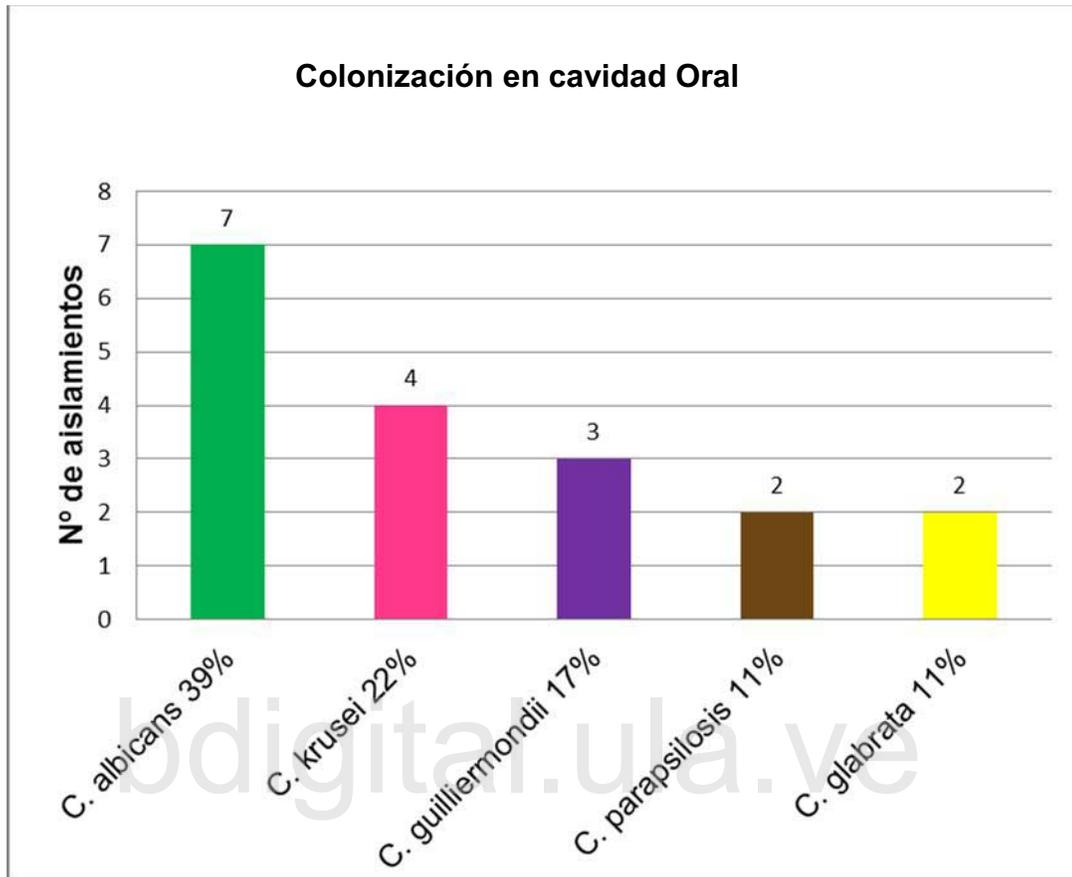


Figura 4. Distribución de frecuencia de colonización en la cavidad oral de los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad De Los Andes, en el periodo U-2012.

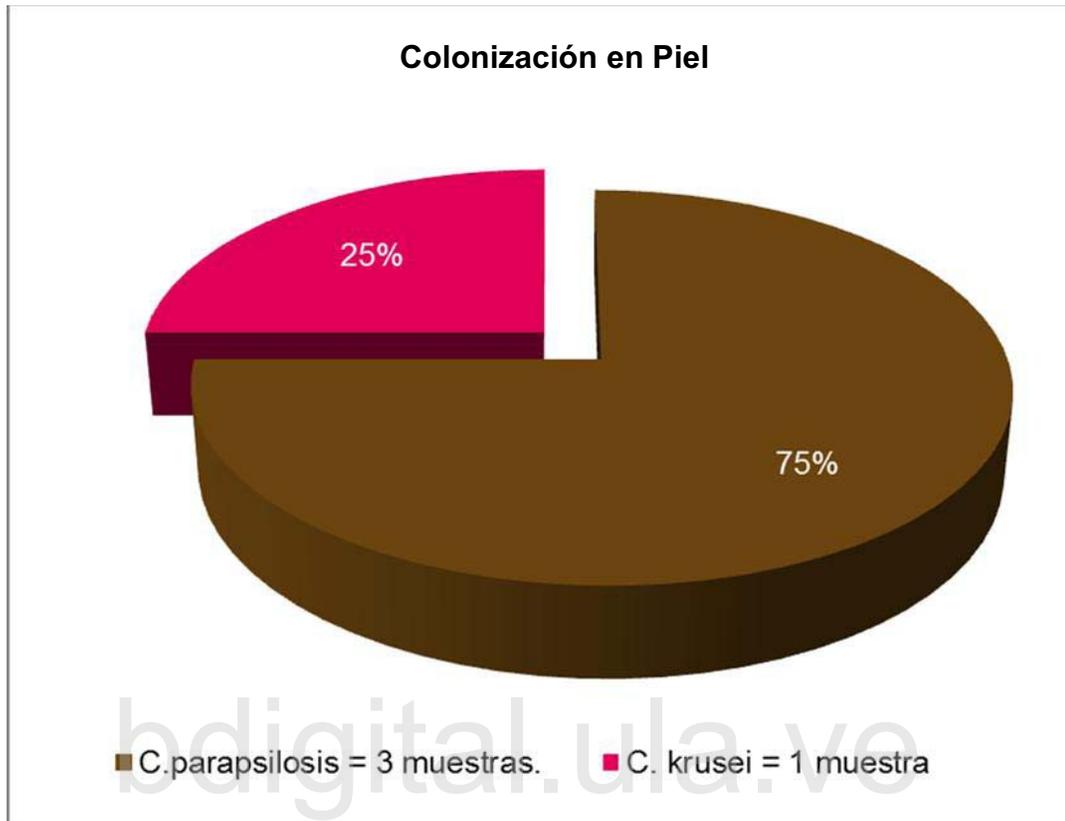


Figura 5. Distribución de frecuencia de especies de *Candida* colonizantes como flora habitual de la piel de los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología de la Facultad de Farmacia y Bioanálisis de La Universidad De Los Andes, en el periodo U-2012.

Tabla 8. Análisis de contingencia entre las distintas especies de *Candida* aisladas como colonizantes y las muestras obtenidas de la cavidad oral y la piel de los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología.

Especies	Muestra Oral		Muestra Piel		Total	
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Candida albicans</i>	7	31,81	0	0,00	7	31,81
<i>krusei</i>	4	18,18	1	4,55	5	22,73
<i>parapsilosis</i>	2	9,09	3	13,64	5	22,73
<i>glabrata</i>	2	9,09	0	0,00	2	9,09
<i>guilliermondii</i>	3	13,64	0	0,00	3	13,64
Total	18	81,81	4	18,19	22	100,00

bdigital.ula.ve

Tabla 9. Análisis de contingencia entre las distintas especies de *Candida* aisladas como colonizantes y la edad de los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología.

Especies	Edad		Edad		Total	
	20-25		26-30			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Candida albicans</i>	7	31,81	0	0,00	7	31,81
<i>Krusei</i>	4	18,18	1	4,55	5	22,73
<i>parapsilosis</i>	5	22,73	0	0,00	5	22,73
<i>glabrata</i>	0	0,00	2	9,09	2	9,09
<i>guilliermondii</i>	3	13,64	0	0,00	3	13,64
Total	19	86,36	3	13,64	22	100,00

bdigital.ula.ve

Tabla 10. Análisis de contingencia entre las distintas especies de *Candida* aisladas como colonizantes y la administración de antimicrobianos en los estudiantes pertenecientes a la Cátedra de Micología.

Especies	Antimicrobianos				Total	
	Si		No			
	Nº	%	Nº	%	Nº	%
<i>Candida albicans</i>	1	4,54	6	27,27	7	31,81
<i>Krusei</i>	0	0,00	5	22,73	5	22,73
<i>parapsilosis</i>	0	0,00	5	22,73	5	22,73
<i>glabrata</i>	0	0,00	2	9,09	2	9,09
<i>guilliermondii</i>	0	0,00	3	13,64	3	13,64
Total	1	4,54	21	95,46	22	100,00

bdigital.ula.ve

DISCUSIÓN

Las distintas especies de *Candida* son un grupo de levaduras que colonizan piel y mucosas del hombre, es decir forman parte de la microbiota habitual. Dicha colonización va a depender de la capacidad de adherencia de la levadura y de las defensas del hospedero.

En el presente estudio multivariante, dicotómico, multifactorial, bicategorico analizado, se consideró la finalidad de comprobar la colonización de piel y mucosa oral por especies de *Candida* y su relación con parámetros demográficos y micológicos, en estudiantes de Micología.

Durante este estudio se obtuvo que de los 63 estudiantes muestreados resultaron colonizados 35% y no colonizados el 65% por distintas especies de *Candida*; cabe destacar que la población a estudio fue de edades comprendidas entre 20 y 30 años, tomándose en cuenta ambos géneros. Resultados similares fueron reportados por Rueda y cols. (2011), quienes encontraron una frecuencia de colonización de 38,3% en cavidad oral en un grupo de sujetos sanos, los resultados obtenidos por estos autores respaldan lo encontrado en esta investigación. Mientras que Bulacio y cols. (2010), en un estudio comparativo en distintos grupos etarios, reportaron colonización en la población adulta de 35% en sujetos sin sintomatología de afecciones orales. Estos hallazgos nos demuestran que *Candida* es capaz de colonizar mucosas y piel sin causar sintomatología clínica. Es importante mencionar que otros autores han reportado diferentes frecuencias encontrando en su mayoría tendencias positivas pero en otras edades y condiciones clínicas.

En el estudio se obtuvo un total de 126 muestras que fueron tomadas y aisladas a los 63 estudiantes, mediante un hisopado de piel y uno de la cavidad oral obteniendo el 18,2% de colonización en piel y 82,8% en cavidad

oral tomando en cuenta que la población estudiada se encontraba aparentemente sana, resultados similares fueron reportados por Jaimes y cols. (2008) quienes encontraron una prevalencia del 51,4% de *Candida* en cavidad oral en un estudio realizado en 35 pacientes sin manifestaciones clínicas de candidiasis oral siendo *C. albicans* la especie más prevalente, de igual manera un estudio reportado por Mesa y cols. (2009) denominado colonización por levaduras en piel sana de recién nacidos quienes encontraron una prevalencia de 45% de colonización siendo *C. parapsilosis* la especie más predominante; los resultados obtenidos por estos investigadores respaldan lo encontrado en esta investigación en cuanto a las especies de mayor prevalencia en cada sitio anatómico estudiado. Es importante mencionar que la información sobre colonización de *Candida* en piel en población joven o adulta aparentemente sana es escasa, por lo que no existen datos de prevalencia al respecto, siendo esta investigación un aporte importante.

En cuanto a las especies que se encontraron colonizando a la población, con mayor frecuencia con respecto a ambos sitios anatómicos estudiados fue *Candida albicans* en 32% de los aislamientos, seguido por *C. krusei* (23%), *C. parapsilosis* (23%), *C. guilliermondii* (13%) y *C. glabrata* (9%). Resultados similares fueron reportados por Bulacio y cols. (2010) en un estudio a pacientes sin sintomatología clínica en cavidad oral quienes encontraron que *C. albicans* fue la especie prevalente 57,15% de los aislamientos, seguida por *C. tropicalis* (20%), *C. parapsilosis* (11,42%), *C. krusei* (8,57%) y *C. glabrata* (2,86%). Estos resultados también concuerdan con otros autores en diferentes estudios relacionados con *Candida*, donde refieren a *C. albicans* como mayor aislamiento. Sin embargo es de interés mencionar que no se encontró *C. tropicalis* en esta investigación cuya variabilidad posiblemente

podría sugerir que se deba a factores exógenos o endógenos presentes en los estudiantes.

En cuanto a la distribución de las especies aisladas de la cavidad oral, se encontró predominio de *C. albicans* en 39% seguida de *C. krusei* (22%), *C. guilliermondii* (17%), *C. parapsilosis* (11%) y *C. glabrata* (11%). Resultados similares fueron reportados por Jaimes y cols. (2008) quienes encontraron de igual forma colonización de distintas especies de *Candida* en mucosa oral en sujetos clínicamente saludables con mayor incidencia de *C. albicans* de 44.4%, seguida de *C. tropicalis* (22.2%). Al igual Rueda y cols. (2011) encontraron en un grupo de sujetos sanos que *C. albicans* fue la especie más frecuente con el 56.1%, seguida de *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. tropicalis*. También Bulacio y cols. (2010) quienes coinciden en el mismo hallazgo en cuanto a *C. albicans* como la especie prevalente en 57,15% de los aislamientos, seguida por *C. tropicalis* (20%), *C. parapsilosis* (11,42%), *C. krusei* (8,57%) y *C. glabrata* (2,86%). Estos hallazgos obtenidos por los autores mencionados anteriormente respaldan esta investigación en cuanto a la prevalencia de las distintas especies encontradas, siendo *C. albicans* la especie mayormente aislada. Llama la atención que no reportan aislamiento de *C. Guilliermondii*. Esto muestra que *C. albicans* es la especie más frecuentemente aislada de la cavidad oral en sujetos aparentemente sanos; este hecho puede explicarse debido a la capacidad que posee la mencionada levadura de adherirse con la célula epitelial del hospedero, la cual puede estar facilitada por la interacción de algunos factores de adherencia específicos entre las superficies orales y *Candida*.

Con relación a la distribución de las especies aisladas de piel se encontró predominio de *C. parapsilosis* con 75% y *C. krusei* con 25%. Goldman y cols. (2011) refiere que el hongo que causa más a menudo la candidiasis cutánea es *C. albicans* resultados que no respaldan lo obtenido en este

estudio. Mesa y cols, (2009) sustentan este hallazgo debido a que en su estudio en piel sana de recién nacidos reportaron colonización de 87,9% de *C. parapsilosis*. Esto sugiere que existe variabilidad en cuanto a los hallazgos de especies que pueden encontrarse colonizando la piel lo cual puede deberse a la capacidad de adherencia de *Candida* al estrato corneo de la epidermis.

La contingencia entre las distintas especies de *Candida* aisladas como colonizantes y las muestras obtenidas de la cavidad oral y la piel de los estudiantes reveló una tendencia positiva. Específicamente mayor colonización en la cavidad oral y menor en la piel. Salazar y Sacsquispe. (2005) y otros investigadores coinciden en que la cavidad oral es colonizada con más frecuencia por especies de *Candida*. Es de interés mencionar que no se encontró colonización en ambos sitios anatómicos a la vez, y que cada estudiante fue colonizado por una especie única de *Candida*. Este hallazgo es sustentado por Puerto y cols. (2001) quienes dicen que cada persona es colonizada por una cepa única de *Candida* que persiste por un tiempo prolongado y que pudiera ser responsable de posibles afecciones micóticas.

En cuanto a la contingencia entre las distintas especies de *Candida* aisladas como colonizantes y la edad de los estudiantes se encontró una tendencia positiva en el grupo de edades entre 20-25 años de 86,36% de colonización y menor con 13,64% en edades de 26-30 años. Salazar y Sacsquispe (2005) también indicaron la mayor frecuencia de colonización en un 30% para el grupo etario de 20 a 59 años de edad, el 43,33% fueron varones y 56,7% mujeres. El resultado de dichos investigadores respalda a esta investigación en cuanto a la frecuencia de colonización del grupo de edades estudiadas, pero por otro lado no sustenta esta investigación en lo obtenido en cuanto al género debido a que en el presente estudio solo se presentó colonización en mujeres. Por lo que se sugiere realizar otras

investigaciones con una muestra mayor e igual número de personas en ambos géneros para afianzar mejor la correspondencia entre colonización de *Candida* y género.

En lo referente al análisis de contingencia entre las distintas especies de *Candida* aisladas como colonizantes y la administración de antimicrobianos en los estudiantes se observó una tendencia negativa de 95,45% y positiva de solo 4,55% es decir solo un estudiante consumía antimicrobianos resultando colonizado, lo cual que puede sugerir que el consumo o no de antimicrobianos o antimicóticos no es indicativo de colonización. Lo mismo fue referido por Salazar y cols. (2005) quienes no encontraron relación con antibióticos debido a una tendencia negativa es decir la mayoría de los sujetos estudiados no consumía dichos medicamentos.

Con relación con el examen directo y los cultivos de las muestras examinadas, no se obtuvo mayor significancia, debido a que del total de las muestras procesadas, solo en 2 de ellos se observaron escasas blastoconidias en el examen directo, este hecho no es de importancia diagnóstica, además hubo crecimiento de *Candida* en 22 muestras de ellos incluyendo las 2 positivas. Salazar y Sacsquispe, (2005) encontraron una incidencia de estructuras fúngicas en el examen directo en 6 sujetos de 120 estudiados. Estos resultados respaldan lo encontrado en esta investigación. Por lo que se sugiere que las muestras obtenidas provenían de pacientes colonizados porque no hay indicativos de infección.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Conclusiones

La relevancia de este estudio fue la comprobación de colonización de especies de *Candida* en la piel y en cavidad oral en los estudiantes de Micología, ya que son pocos los estudios realizados en población aparentemente sana por lo que no se tiene mucha información al respecto.

A partir de los resultados obtenidos en este estudio se concluyó que:

1. Hubo colonización por distintas especies de *Candida* en los estudiantes de micología, estando presente ó en piel ó en cavidad oral y sin colonización mixta
2. En cuanto a la frecuencia de colonización en la piel y en la cavidad oral se observó mayor colonización en cavidad oral con 81,8%.
3. Existe una variabilidad en la frecuencia de las especies de *Candida* aisladas como colonizantes de los estudiantes de micología, donde se obtuvo *C. albicans* (32%) con mayor predominio, seguida por *C. Krusei*, y *C. parapsilosis*, y en menor proporción *C. Guilliermondii* y *C. glabrata*.
4. Con relación a la colonización de la piel por las especies de *Candida* aisladas como colonizantes se observó predominio de *C. parapsilosis* (75%) con menor incidencia de *C. krusei*.
5. En lo referente a la colonización por especies de *Candida* en la cavidad oral se encontró *C. albicans* (39%) con mayor predominio, seguida de *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis* y *C. glabrata*.
6. Los hallazgos encontrados sobre la relación en cuanto a parámetros demográficos como la edad, se obtuvo mayor colonización en la

población entre 20-25 años (86,36%) con predominio de *C. albicans* (31,81%).

7. Respecto al consumo o no de antimicrobianos o antimicóticos solo un caso resulto con crecimiento positivo tomando antimicrobianos por lo que no resulta muy significativo.
8. No se encontró relación en cuanto al género y las especies de *Candida* como colonizantes debido a que la población estudiada resulto una constante del género femenino.
9. En cuanto a los exámenes directos de las muestras no se observaron elementos que indiquen infección y en los cultivos micológicos crecieron las especies colonizantes.

Recomendaciones

1. Se recomienda la realización de nuevos estudios sobre colonización por especies de *Candida* en población aparentemente sana con un mayor tamaño de la muestra y con igual distribución de género masculino y femenino para establecer relación y variabilidad en cuanto a dicho parámetro.
2. Para estudios posteriores, se debería evaluar nuevamente la relación en cuanto al consumo de antimicrobianos ya que en la presente investigación no fue significativa.
3. Fomentar la realización de nuevos trabajos de investigación en lo referente al evento de estudio, con la finalidad de que existan más trabajos previos disponibles para futuros investigadores.
4. Los autores de esta investigación recomiendan usar nuevas técnicas de identificación para evaluar la efectividad de las mismas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arias, F. (2012). El proyecto de investigación: introducción a la metodología científica 6ta ed. Caracas: Episteme.
- Bailliere, T. (1988). Ecología de *Candida* y la epidemiología de la candidiasis. *Candida* y la candidiasis: una reseña 2da ed. London.
- Bengel, W. (2010). Candidiasis orales, cuadro clinic, epidemiologia y etiología. *Return to the journal summary*. In Quintessence, 10(23).
- Bulacio, L., Ramadán, S., López, C., Ramos, L., Marozzi, ML., Sortino, M., Nanini, A., Paz, M. y Escovich, L. (2010). Estudio comparativo entré una población adulta y una pediátrica, de la colonización de la mucosa oral por hongos levaduriformes. Libro de las III Jornadas de Ciencia y Tecnología.UNR, 72.
- Butler, G., Rasmussen, M. y Lin, M. (2009). Evolution of pathogenicity and sexual reproduction in eight *Candida* genomes. *Nature*, 62.
- Calderone, R. y Braum, P. (1991). Adherence and Receptor Relationships of *Candida albicans*. *Microbiol Rev*, 55(1).
- Cantón, E., García, R., Martín, M., Pemán, J. y Guinea, J. (2013). Métodos microbiológicos para el diagnóstico, manejo y estudio de la infección fúngica invasora. *Enfermedades Infecciosas Microbiología Clinica*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.eimc.2013.01.00>.
- Casas, R. (1980). Micología general. 1era ed. México: Edit. Iberoamericana.
- Castrillón, R., Palma, R. Y Padilla, D. (2005). Factores de virulencia en *Candida spp*. *Dermatología Rev. Mex*, 49.
- Corrado, G., Pizzarelli, G., Francesco, B., Spreghini, E., Giorgio, S. y Pietro, M. (2006). *Candida guilliermondii* Fungemia en pacientes con neoplasias hematológicas. *Rev. Clin. Microbiol*, 44(7).
- Chai, L., Denning, D. y Warn, P. (2010). *Candida tropicalis* en la enfermedad humana crítica. *Rev. Microbiol*, 36(4).

- Estrada, B., Dávalos, M., Flores, P., Mendoza, D. y Sánchez, V. (2011). Comparison between conventional methods, CHROMagar® *Candida* and PCR method for the identification of *Candida* species in clinical isolates. *rev Iberoame de Micol*, 28(1).
- Fidel, P., Vázquez, J. y Sobel, J. (1997). *Candida glabrata*: Review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. *Clin Microbiol Rev*, 12.
- Figueiredo, V., Assis, D. y Resende, M. (2007). Identification and *in vitro* antifungal susceptibility testing of 200 clinical isolates of *Candida* spp. responsible for fingernail infections. *Mycopathologia*, 33.
- Freydiere, A., Robert, R., Ploton, C., Marot-Leblond, A., Monerau, F. y Vandenesch, F. (2003). Rapid identification of *Candida glabrata* with a new commercial test, *Glabrata*. *Clin Microbiol Rev*, 41.
- Freydiere, A., Guinet, R. Y Boiron, P. (2001). Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypical methods. *Med. Mycol*, 39.
- García, M., García A., Domínguez, J. y Noval. (2001). Otomicosis: aspectos clínicos microbiológicos. *Diagn Biol. cadiz*, 50(1).
- Goldman, L., Kauffman, C. y Schafer, A. (2011). Candidiasis. Cecil Medicine. Philadelphia, Saunders Elsevier, 24.
- Guilarte, C. y Pardi, G. (2009). Pruebas para identificar especies de *Candida* en cavidad bucal. *Acta Odontologica Venezolana*, 47(3).
- Greenfield, R., Hazen, K. y Howell, S. (2007). Host defense system interactions with *Candida*. *Med Vet Mycol*, 30.
- Hazen, K. y Howell, S. (2007). *Candida*, *Cryptococcus*, y otras levaduras de importancia médica. Manual de Microbiología Clínica, 2(9).
- Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2010). Metodología de la investigación. 3era ed. México: McGraw-Hill interamericana.

- Hernandez, S., Gonzalez, A. y Rueda, F. (2010). Capacidad de adhesión de cepas de *Candida albicans* aisladas de una población de niños portadores sanos. *Revista odontológica latinoamericana*, 2(2).
- Jaimes, A., Hernández P., Martínez H., Rodríguez, C. y Arenas, G. (2008). Portadores de *Candida* en la mucosa oral: tipificación de 35 cepas con CHROMagar® *Candida*. *Med Int Mex*, 24(4)
- Krcmery, V. y Barnes, J. (2002). Non-albicans *Candida* spp. Causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect*, 50
- Lewis, R., Atkinson B. y Kontoyiannis D. (2008). *Candida lusitanae* fungemia in cancer patients: risk factors for amphotericin B failure and outcome. 1era ed. *Mycol*, 46(6).
- Linares, S., Solís, C., Pemán, J., Mazuelos, E. y Calvo, M. (2001). Identificación de levaduras. *Rev Iberoamer de Micol*, 11.
- Mandell, E., Douglas, y Bennett. (2005). Especies de *Candida*, Enfermedades infecciosas. Principios y práctica. Elsevier Churchill *Clin Microbiol Infect* Livingstone, 57.
- Mandell, E., Bennett, J. y Dolin, R. (2009). *Candida* species. Principles and Practice of Infectious Diseases. 7th ed. Philadelphia, Elsevier Churchill Livingstone, 257.
- Masala, L., Luzzati, R., Maccacaro, L., Antozzi, E., Concia y Fotana, R. (2003). Grupo nosocomial de *Candida guilliermondii* fungemia en pacientes quirúrgicos.. *Dis*, 22.
- Mavor, A., Thewes, S. y Hube, B. (2005). Systemic fungal infeccions caused by *Candida* species: Epidemiology, infection process and virulence atributes. *Curr. Drug. Targets*, 6(8).
- Mendivil, C., Egúes J. y Polo, P. (2000). Infección Nosocomial, Vigilancia y Control de la Infección en Neonatología. *Anales Sis. San Navarra*, 22.
- Mendoza, M. (2005). Importancia de la identificación de levaduras. *Rev Soc Ven Microbiol*, 25(1).

- Mesa, L., González, E., Rodríguez, S., Robertiz, S., Urdaneta, O., Calvo, B., Silva, E y Villalobos, R. (2009). Colonización por levaduras en piel sana de recién nacidos. *Revista Kasmera*, 37(2).
- Montiel, F. (1997). Flora bacteriana habitual. *Boletín de enfermedades infecciosas*, 26(3).
- Murray, P., Rosenthal, K., Kabayashi, G. y Pfaller, M. (2002). *Medical Microbiology*. 4th ed. St Louis: Mosby.
- Mcclenny, N., Fei, y Baron. (2002). Change in colony morphology of *Candida lusitanae*, In association with development of amphotericin B resistance. *Antimicrob. Agents Chemother*, 46.
- McGinnis, M. y Tilton, R. (1994). *Clinical and pathogenic microbiology*. 2da ed. St Louis: Mosby.
- Odds, F. y Bernaerts, R. (1994). ChromAgar *Candida* a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J clin microbial*, 32(8).
- Orbera, T. (2004). Métodos Moleculares de identificación de levaduras de interés biotecnológico. *Rev. Iberoam. Micol*, 21.
- Parella, S. y Martins, F. (2006). *Metodología de la investigación cuantitativa* 2da ed. Caracas: FEDUPEL.
- Panizo, M. y Reviákina. (2001). *Candida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. *Rev. Soc. Ven. Microbiol*, 21(2).
- Pfaller, M. y Diekema, D. (2004). Twelve years of fluconazole in clinical practice: global trends in species distribution and fluconazole susceptibility of bloodstream isolates of *Candida*. *Clin Microbiol Infect* 10(1).
- Pardi, G. y Cardozo, E. (2002). Algunas consideraciones sobre *Candida albicans* como agente etiológico de candidiasis bucal. *Rev Microbioll*, 40(1).

- Pemán, J., Bosh, M., Canton, E., Viudes, A., Jarque, L. y Gomez, M (2008). Fungemia due *Candida guilliermondii* in a pediatric and adult population during a 12 year period. *Diagn Microbiol infect*, 60.
- Perurena, L., Fernández, A., Martínez, M., Mendoza, L. y Valdés, R. (2006) *Candida dubliniensis*: necesidad de establecer un diagnóstico correcto. *Rev Cub Med*, 58(3).
- Pittet, D., Monod, M., Peter, M., Frenk, E. y Auckenthaler, R. (1994). *Candida* Colonization and Subsequent Infections in Criticall y Ill Surgical Patients. *Annals of Surgery*, 20(6).
- Pontón, J., Regúlez, P., Quindós, G. y Cisterna, R. (1990). La composición antigénica de *Candida albicans* y su aplicación al diagnóstico de las candidiasis. *Rev Iberoam Micol*, 7.
- Puerto, J., García-Martos, P., Márquez, A., García-Agudo, L. y Mira J. (2001) Candidiasis orofaríngea. *Rev Diagn Biol*, 50(4).
- Pfaller, A. y Diekema, D. (2007). Epidemiología de las candidiasis invasiva: un problema de salud pública persistente. *Clin Microbiol Rev*, 20.
- Real Academia Española. *Diccionario de lengua española*. (2001). 22 ed. Editorial ESPASA Libros.
- Rodríguez, C., Arenas, G. y Krcmery, V. (1999). *Torulopsis glabrata* an emerging yeast pathogen in cancer patients. *Int. Antimicrob Agents*, 11.
- Rueda, F., Hernández, E., Ordoñez, W., Villamil, J. y Godoy, C. (2011). Portadores de *Candida* oral en pacientes atendidos en una clínica dental de Tabasco, México. *Rev Odont latinoamericana*, 3(2).
- Salazar, M. y Sacsquispe, S. (2005). Presencia de hifas de *Candida* en adultos con mucosa oral clínicamente saludable. *Rev Estomatol Herediana*, 15(1).
- Sánchez, S. y Sáenz, A. (2006). Infecciones cutáneas bacterianas. *Dermatol peruana*, 16(1).

- Silva, V. (2005). Presente y futuro en el Diagnostico de las Micosis Invasivas. Curso de actualización en Micología Medica. Importancia de la identificación de levaduras. *Rev Soc Ven Microbiol*, 25(1).
- Tangarife, C. (2011) Metodos de Identificacion de Levadutras y otras especies. microbiology univer.de Antioquia, 16.
- Torres, R. *Candida glabrata*: Un patógeno emergente. Control de Calidad SEMC. http://www.seimc.org/control/revi_Mico/cglabra.htm accedido. (31octubre de 2013).
- Trofa, D., Gácsér, A. y Nosanchuk, J. (2008). *Candida parapsilosis*, an emerging fungal pathogen. *Clin Microbiol Rev*, 21
- Trujillo, V., Guilarte, C. y Pardi, G. (2006). Pruebas rápidas para la detección de *Candida albicans* en cavidad bucal. Facultad de Odontología UCV, 44(3).
- Vargas, R., Garaizar, J., Pontón J. y Quindós, G. (2000). Utilidad de la amplificación aleatoria de ADN en la diferenciación de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*. *Rev Iberoam Micol*, 17.

bdigitalula.ve **ANEXOS**

ANEXO 1

Consentimiento Informado

COLONIZACION DE PIEL Y MUCOSA POR ESPECIES DE *Candida* EN ESTUDIANTES DE MICOLOGIA

Investigador principal: _____ Fecha: _____

Nombre del paciente: _____ Fecha: _____

Candida es un organismo comensal que forma parte de la flora normal del ser humano, puede afectar a individuos de cualquier edad, raza o género, siendo los factores pre-disponentes del huésped en combinación con los del microorganismo, los que favorecen el desarrollo de la infección. Sin embargo, cuando existe debilidad, desnutrición, alteración o ausencia de mecanismos de defensa normales del cuerpo (inmunosupresión), o una notable descompensación en el balance normal de la superficie de la microbiota por la administración de antibióticos de amplio espectro, estos hongos pueden causar infecciones características que pueden ser bastante graves e incluso poner en peligro la vida del paciente. Por esta razón nos permitimos solicitar su consentimiento para aprobar su participación en el presente estudio que tiene como objetivo general comprobar la colonización de piel y mucosa por especies de *Candida* y su relación con parámetros demográficos y micológicos, en estudiantes de micología de la universidad de los andes.

La investigación consiste en realizar cultivos para hongos de diferentes muestras (mucosa oral y de piel) a los estudiantes que se encuentran cursando la asignatura de micología, con la finalidad de determinar la presencia de colonización por *Candida*. Esto debido a que se desconoce las especies de *Candida* que pueden encontrarse colonizando a los estudiantes aparentemente sanos.

Sus derechos son los siguientes:

- 1) La decisión de participar en dicho estudio, es completamente voluntaria
- 2) Ud. Puede decidir si participa o no, o puede retirarse de la investigación cuando lo desee sin perjuicio alguno.
- 3) Ud. Será informado de cualquier cambio o nueva información que ocurriese durante el estudio que pudiese afectar su participación.

Si usted está de acuerdo en participar en el estudio, se le realizara los siguientes procedimientos:

1. Inicialmente se le llenara una ficha clínica-epidemiologica con sus datos pertinentes al estudio, como son nombre completo, edad, género, procedencia y administración de antibióticos o antimicóticos.
2. Se le tomara muestras de hisopado bucal e hisopado de piel.

Todos estos procedimientos formaran parte de la investigación para comprobar que especies de *Candida* pueden encontrarse colonizando la mucosa oral y la piel de los estudiantes.

Beneficios de la investigación:

- El estudio será gratuito
- La información que se obtenga con esta investigación será de gran utilidad para dar a conocer que especies de *Candida* puede encontrarse colonizando a la población sin causar afección o lesión alguna.

Sin embargo puede que no haya mayor beneficio para usted.

Las diferentes muestras serán llevadas al laboratorio de micología de la facultad de farmacia y Bioanálisis, de la universidad de los andes. Allí serán analizadas y procesadas para su posterior identificación de las posibles especies de *Candida* aisladas. Ud. Es libre de preguntar sobre el estudio y sus derechos en este proyecto de investigación.

DECLARACIONES DEL VOLUNTARIO: Los propósitos y procedimientos de este proyecto me han sido explicados y los he comprendido bien. He sido informado acerca del tema y los beneficios que pueden resultar y lo he comprendido. He sido informado de que pueden ocurrir eventos inesperados. Yo estoy de acuerdo en participar como individuo en este proyecto.

Nombre del estudiante: _____

Firma del estudiante: _____ Fecha: _____

DECLARACIONES DEL INVESTIGADOR: Yo le he explicado a la persona de arriba nombrada la naturaleza y los objetivos de los procedimientos anteriormente descritos y los riesgos previstos, los beneficios que pueden presentarse. Le he preguntado si tenía alguna duda o pregunta sobre los procedimientos a realizarse y he contestado esas preguntas con mi mayor capacidad.

Nombre del investigador: _____

Firma del investigador: _____ Fecha: _____

ANEXO 2

[Instrumento de recolección de datos]

Universidad de los Andes
Facultad de Farmacia y Bioanálisis
Escuela de Bioanálisis
Departamento de Microbiología y Parasitología
Laboratorio de Micología

FICHA CLINICA

N# de Ficha: _____ Fecha: _____

Nombre del estudiante: _____

Edad: _____

Género: _____

Ingiere antimicrobianos: si _____ no _____

• Antibióticos: _____

• Antimicóticos: _____

1) Tipo de muestra: **Hisopado bucal u oral.**

Examen directo: Positivo: _____ negativo: _____

Observación: _____

Especie de *Candida* aislada: _____

2) Tipo de muestra: **Hisopado de piel.**

Examen directo: Positivo: _____ negativo: _____

Observación: _____

Especie de *Candida* aislada: _____

ANEXO 3

[Cuadro de coherencia interna]

Titulo	Objetivo General	Pregunta	Hipótesis
Colonización de piel y mucosa oral por especies de <i>Candida</i> y su relación con parámetros demográficos y micológicos en estudiantes de micología	Comprobar la colonización de piel y de mucosa oral por especies de <i>Candida</i> y su relación con parámetros demográficos en estudiantes de micología	¿Cuál es la relación entre la colonización de piel y la mucosa oral por especies de <i>Candida</i> y su relación con parámetros demográficos y micológicos en estudiantes de micología?	Existe la asociación directa entre la colonización de piel y la mucosa oral y las especies de <i>Candida</i> e indirecta con los parámetros demográficos y micológicos en estudiantes de micología

Fuente: Villamizar y Carrero (2013)

ANEXO 4

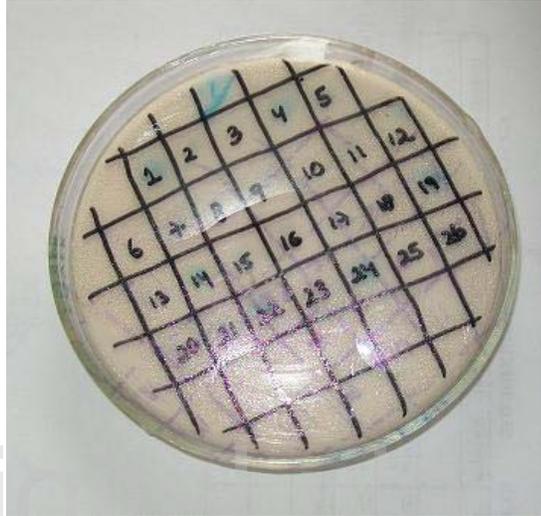
[Cultivo de la muestra en Agar sabouraud dextrosa con cloranfenicol]



Fuente: Propia

ANEXO 5

[Cultivo de las muestras en el medio Cromogénico CHROMagar®
Candida]



Fuente: Propia

Anexo 6

[Cultivo en Agar Harina de Maíz “CORN MEAL”]



Fuente: Propia