

## DETERMINACION Y CARACTERIZACION DE ESPECIES DE *Candida* EN PERSONAS VIVIENDO CON VIH/sida QUE ACUDEN A CLINICA HOSPITALARIA URBANA

Paiz W<sup>1</sup>, Lima S<sup>2</sup>, Arathoon E<sup>2</sup>, Samayoa B<sup>1,2</sup>.

<sup>1</sup>Unidad de Investigación de Epidemiología y Diagnóstico de Enfermedades Infecciosas –(UDDEI-), Departamento de Microbiología, Escuela de Química Biológica, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, Universidad de San Carlos de Guatemala, Guatemala.

<sup>2</sup>Clínica Familiar “Luis Ángel García”. Asociación de Salud Integral –ASI- Hospital General San Juan de Dios.

### 1. RESUMEN

*Candida* es reconocida actualmente como patógeno oportunista asociado con episodios de candidiasis oral recurrente en personas que viven con VIH/sida (PVVS). Hay más de 150 especies de *Candida* de las cuales 10 son consideradas patógenos importantes para el ser humano siendo las principales especies aisladas en candidiasis oral: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicales* y *C. parapsilosis*. El presente estudio se realizó con el objetivo de determinar y caracterizar la presencia de las diferentes especies de *Candida* en infecciones a nivel oral de las PVVS que asistieron a la Clínica Familiar “Luis Ángel García” del Hospital General San Juan de Dios.

Durante el período comprendido de abril a julio del año 2006 fueron recolectadas en Guatemala 68 cepas de *Candida* provenientes de 56 pacientes con candidiasis oral que viven con VIH/sida (12/56, 21.4% femeninas y 44/56, 78.6% masculinos). A cada paciente le fue solicitado su consentimiento y posteriormente se recolectaron datos en una encuesta para obtener información clínica del mismo. Seguidamente se aisló e identificó cada cepa mediante pruebas fenotípicas. Finalmente a todas las cepas se les determinó el perfil de susceptibilidad antifúngica mediante el sistema Sensititre® YeastOne. Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva.

Se observó que las principales especies del género *Candida* identificadas en el estudio fueron *C. albicans* (52/68, 76.4%) seguido por *C. glabrata* (10/68, 14.7%). Solamente dos aislamientos de *C. dubliniensis* (2/68, 2.9%) fueron observados, siendo este el primer reporte en Guatemala. Las coinfecciones más frecuentes en estos pacientes fueron las fúngicas (8/35, 22.8%) seguidas por las bacterianas, específicamente tuberculosis (13/35, 37.1%). La mayoría (45/56, 80.3%) no poseían tratamiento antirretroviral ya que eran pacientes que visitaban por primera vez la clínica. Los principales tipos de candidiasis oral detectados fueron la pseudomembranosa (64/68, 94.1%) seguida de la eritematosa (2/68, 2.9%). La mayoría de los aislamientos fueron susceptibles a los antifúngicos evaluados (fluconazol, itraconazol, 5-fluorocitosina y voriconazol), presentando únicamente resistencia *C. glabrata* a itraconazol y a fluconazol (10/64, 15.6% y 1/64, 1.6%, respectivamente), datos similares a los obtenidos en México, Estados Unidos y Canadá (1, 2).

En conclusión, los datos obtenidos en el presente estudio constituyen el primer registro en el que se describen a las diferentes especies de *Candida* en personas que viven con el VIH/sida en Guatemala.

## 2. INTRODUCCIÓN

*Candida* es un patógeno oportunista que causa una de las infecciones defensorias de sida más frecuente, llamada candidiasis oral. Actualmente se ha reportado la resistencia de este patógeno a los azoles (agentes antifúngicos altamente efectivos y de baja toxicidad) utilizados frecuentemente en la prevención y terapia para la candidiasis (3).

*C. dubliniensis* posee características morfológicas y fenotípicas similares a aquellas de *C. albicans*; por lo que *C. dubliniensis* no es identificada con los métodos de rutina utilizados (4). Por lo anterior es indispensable diferenciar las especies de *Candida* en consideración a la significancia clínica de esta levadura en personas viviendo con VIH/sida (PVVS) en Guatemala.

Las pruebas fenotípicas para la identificación de las especies de *Candida* se utilizan como una herramienta para la identificación de estos microorganismos.

Hoy en día existen técnicas moleculares para la identificación de microorganismos, las cuales son muy precisas y exactas. Sin embargo, la combinación de pruebas que manifiesten características fenotípicas de las levaduras pueden ser de gran utilidad en laboratorios que no cuentan con los recursos para la realización de pruebas genéticas (3, 4).

Por lo anterior el objetivo de este estudio fue determinar y caracterizar las especies de *Candida* en lesiones orales en las personas viviendo con VIH/sida (PVVS).

## 3. MATERIALES Y MÉTODOS

### Diseño del estudio

Se realizó un estudio descriptivo, prospectivo para caracterizar las especies de *Candida*. El muestreo llevado a cabo fue de tipo no probabilístico por intención o conveniencia, realizado durante los meses de abril a julio del año 2006 en la Clínica Familiar Luis Angel García –Asociación de Salud Integral (ASI)- ubicada en el Hospital General San Juan de Dios. Fueron incluidos un total de 56 pacientes (HIV/sida) con candidiasis oral.

### Colección de muestras clínicas y datos

Se incluyeron 56 muestras de hisopado oral provenientes de las lesiones orales causadas por *Candida* en los pacientes incluidos.

Se recolectaron los datos clínicos anotados en los expedientes médicos mediante una encuesta. Posteriormente se realizó una base de datos de los registros de los expedientes (esta incluyó nombre del paciente, género, edad, procedencia, recuento de linfocitos totales, recuento de células CD4+, carga viral, antecedentes de terapia antirretroviral, número de historia clínica, número de muestra, número de cultivo de hongos, microorganismo aislado y susceptibilidad antifúngica).

### Preparación y tratamiento de las muestras.

Las muestras fueron inoculadas en *Candida* CHROMagar. La determinación de la especie fue basada en un análisis microbiológico fenotípico que incluyó la producción de tubos germinales, crecimiento a diferentes temperaturas, análisis de la pigmentación en *Candida* CHROMagar,

producción de clamidosporas y diferenciación mediante utilización de carbohidratos (API® 32C).

### **Producción de tubos germinales**

Se buscaron colonias sugestivas de *C. albicans*, las cuales se suspendieron en suero humano. Se consideró prueba positiva la presencia de filamentos que surgieron de las levaduras y como prueba negativa las levaduras sin cambio. Tanto *C. albicans* como *C. dubliniensis* producen tubos germinales, a diferencia de las otras especies de *Candida* (5, 6).

### **Crecimiento a diferentes temperaturas**

Se inocularon las colonias que presentaron tubos germinales positivo en tres placas de agar sabouraud, una fue incubada a 37°C, la otra a 42°C y la última a 45°C. *C. dubliniensis* presenta un buen crecimiento a 37°C, escaso o nulo a 42°C y no crece a 45°C. La mayor parte de cepas de *C. albicans* crece incluso a 45°C, aunque en escasa cantidad (3).

### **Análisis de pigmentación de las colonias en el medio Candida CHROMagar**

Se inocularon directamente las muestras en candida CHROMagar y se consideraron colonias presuntivas de *C. dubliniensis* aquellas de color verde oscuro o verde azulado, *C. albicans* de color verde claro, *C. glabrata* aquellas rosa rojizo púrpura, *C. tropicalis* de azul, *C. krusei* rosa pálido con bordes blancos y finalmente presuntivas de *C. parapsilosis* aquellas blanco marfil (3).

### **Producción de clamidosporas**

Se inocularon las colonias sugestivas de

*C. dubliniensis* y *C. albicans* en el medio papa-zanahoria. La mayor parte de cepas de *C. albicans* no producen clamidosporas o las producen en escasa cantidad a diferencia de *C. dubliniensis* que produce abundantes o regular cantidad (7-9).

### **Diferenciación mediante utilización de carbohidratos (API® 32C)**

Todas las cepas fueron identificadas mediante el sistema semiautomatizado API® 32C (Biomérieux, Inc.) (3, 10).

Este sistema de identificación está compuesto por diferentes pruebas de asimilación y por una base de datos especialmente adaptada. Permite identificar 63 especies diferentes de organismos levaduriformes o relacionados y fue utilizada manualmente (3, 10). La galería se compone de 32 cúpulas: 29 contienen cada una un sustrato carbonado deshidratado, una es el control negativo, otra detecta la sensibilidad a la cicloheximida y la última es una prueba colorimétrica para la esculina (3, 10).

La lectura de estas reacciones se realizó por comparación con un control de crecimiento y la identificación se obtuvo a partir de un código numérico, mediante un programa informático (3, 10).

### **Susceptibilidad antifúngica por microdilución colorimétrica: Sensititre® YeastOne**

A todas las cepas les fue determinada la susceptibilidad antifúngica mediante el sistema Sensititre YeastOne (TREK Diagnostics) (11).

Se preparó una suspensión de trabajo conteniendo aproximadamente  $1.5 \times 10^3$  UFC/ml de levadura en el caldo YestOne (AccuMed International) (11).

Seguidamente los paneles YestOne fueron rehidratados inoculando 100 ml de la suspensión de trabajo en cada pozo. Simultáneamente fue inoculada una placa de agar sabouraud con 10 ml de la suspensión de trabajo como control de crecimiento (Un inóculo correcto produjo 15 a 80 colonias) (11).

Cada panel fue cubierto con un sello plástico e incubado a 35°C en condiciones aeróbicas durante 48 horas.

Posteriormente se procedió a la lectura de cada panel utilizando luz artificial (11).

El crecimiento de levaduras en las soluciones antifúngicas se determinó por el cambio en el indicador de crecimiento de azul (negativo) a rojo (positivo). La concentración mínima inhibitoria (CIM), fue interpretada como la menor concentración en la que el agente antifúngico inhibió sustancialmente el crecimiento del organismo que pudo detectarse por medio de un cambio de color rojo (crecimiento) a azul (no crecimiento) (11).

**Aspectos Éticos.** A todos los pacientes que cumplían con los criterios de inclusión se les informó de la naturaleza del estudio y les fue solicitado su consentimiento para tomar la muestra cuando había indicación médica.

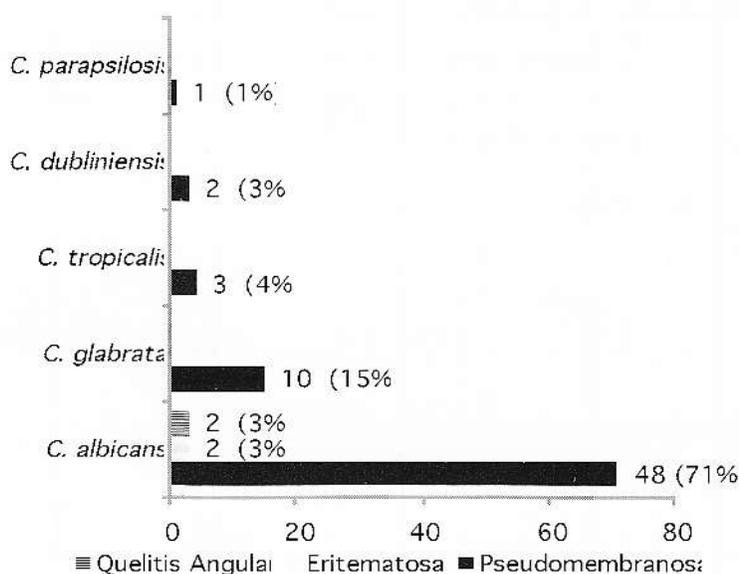
**Análisis de Datos.** Los datos fueron analizados mediante estadística descriptiva.

#### 4. RESULTADOS

Durante un período de cuatro meses (comprendido de abril a julio del año 2006) se procesaron muestras de raspado de la mucosa oral provenientes de 56 personas viviendo con VIH/sida (PVVS). Los porcentajes de las principales especies del género *Candida* identificadas en el estudio de acuerdo a las manifestaciones orales de los pacientes se presentan en Gráfica 1. El 77% corresponde a *Candida albicans* siendo la levadura más aislada (52/68) seguido por 15% de *Candida glabrata* (10/68). Como pudo observarse *Candida albicans* fue el agente causal más aislado en candidiasis pseudomembranosa, eritematosa y queilitis angular. Las otras especies de *Candida* aisladas (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. dublinensis* y *C. parapsilosis*) solamente fueron aisladas de aquellos pacientes que presentaron candidiasis pseudomembranosa.

### Gráfica 1. Manifestaciones bucales de acuerdo a la especie de levadura

aislada (N=68)



Fuente: Datos experimentales

La información demográfica de los pacientes que participaron en el estudio se encuentra en Tabla 1, en la cual se reportaron los datos de acuerdo a la especie de *Candida* aislada y a las manifestaciones orales. La media (35 años) y la mediana (32 años) de la edad de los pacientes fueron semejantes en cada especie de *Candida* aislada. El 78.6% eran hombres (44/56); el 48.2% de población procedía fuera de la capital (27/56) y el 46.4% de la ciudad capital (26/56).

El estado de los pacientes incluidos en el estudio de acuerdo a los datos recopilados en la entrevista y a los revisados en el expediente clínico de cada paciente se describe en la Tabla 1. El recuento de linfocitos se mantuvo entre 1000-2000 (valor normal 2000-4000), solo dos casos se presentaron con recuentos mayores de 3000 (3.6%). Con respecto

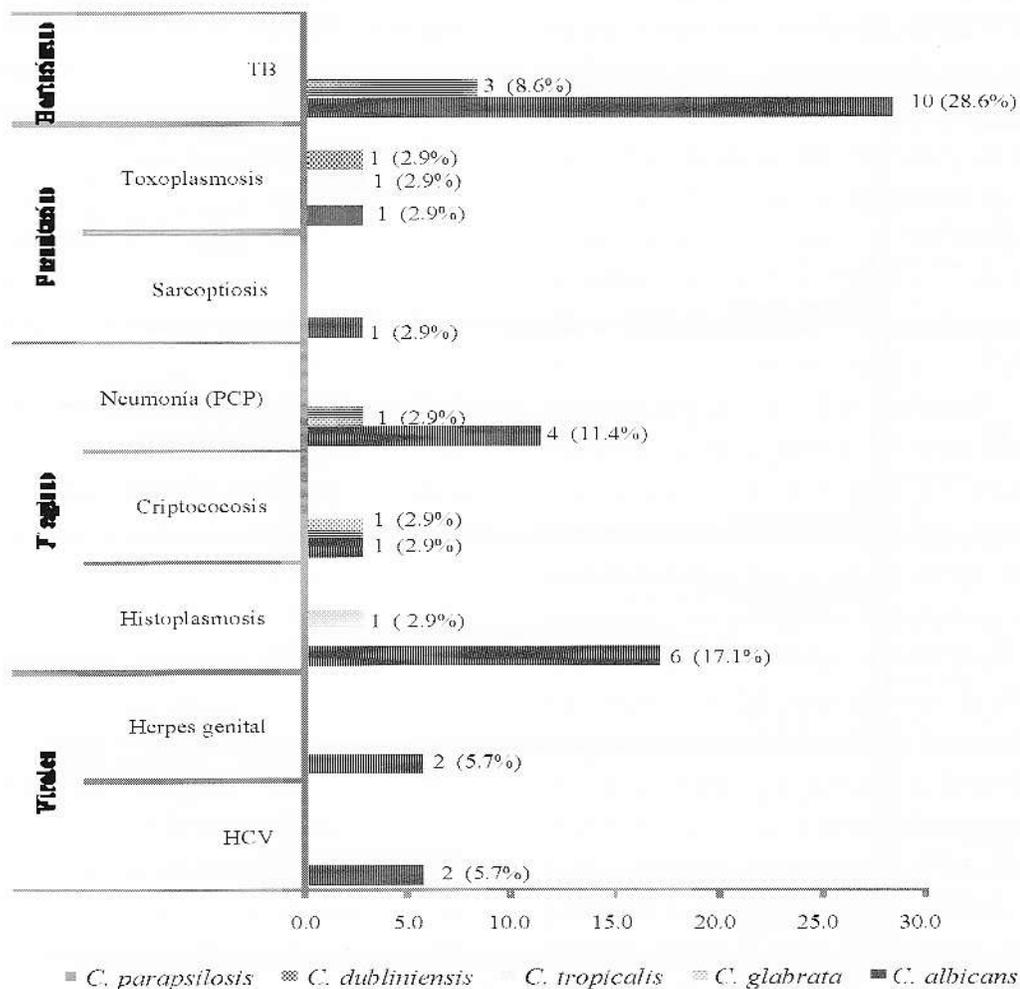
al recuento de células CD4+/ $\mu$ l, el 69.6% fue menor de 200 células (39/56) y únicamente un paciente presentó un recuento mayor a 500. El 76.8% de los pacientes (43/56) tenía cargas virales muy elevadas, por arriba de 10,000 copias HIV RNA/ml, siendo la media de 338,742 y únicamente uno (1.8%) estuvo debajo de 10,000 copias. Con respecto a la terapia antirretroviral menos del 19.6% (11/56) de la población contaba con triple terapia antirretroviral al momento del estudio, siendo zidovudina, lamivudina y efavirenz el principal tratamiento de elección.



Las coinfecciones observadas fueron clasificadas como fúngicas, bacterianas, virales y parasitarias (Gráfica 2). Las coinfecciones más frecuentes fueron las fúngicas: 7 casos de histoplasmosis (20%), 2 de criptococosis (5.7%) y 5 *P. jiroveci* (14.3%). La coinfección bacteriana, más frecuente

fue la tuberculosis (37.1%). Además pudo observarse que en *Candida albicans* se manifestaron otras coinfecciones virales y en el caso de *Candida glabrata* la tuberculosis fue la coinfección que predominó.

**Gráfica 2.** Coinfecciones presentadas por las personas viviendo con VIH/sida (PVVS) que participaron en el estudio (N = 56)



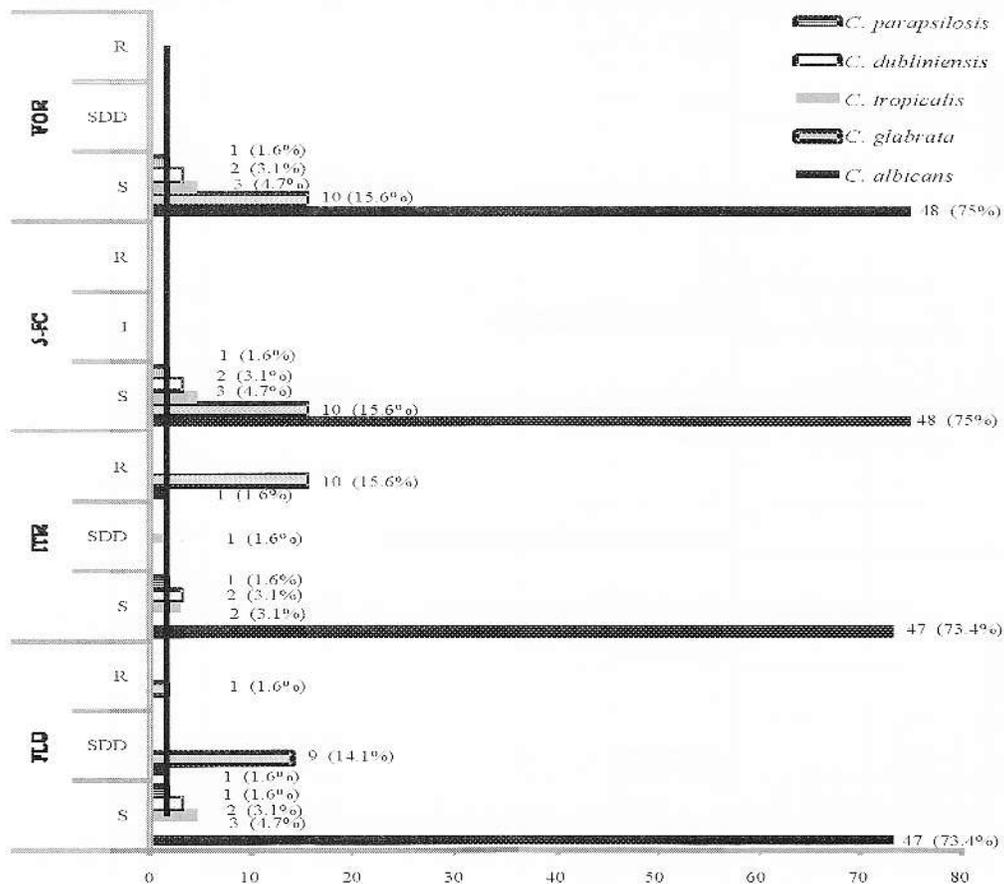
Fuente: Datos experimentales

HCV= hepatitis C, PCP= *Pneumocystis jiroveci*, TB= tuberculosis

En la Gráfica 3 se observa el perfil de susceptibilidad antifúngica de los aislamientos. Los aislamientos de *C. glabrata* presentaron el 1.6% de resistencia a fluconazol (FLU) (1/64) y el 15.6% a itraconazol (ITR) (10/64), en tanto que los de *C. albicans* solamente presentaron el 1.6% de resistencia a ITR (1/64). Ninguna de las otras especies de *Candida* presentó resistencia a los antifúngicos ensayados.

Todas las especies estudiadas fueron susceptibles a voriconazol y 5-fluorocitosina. El 14.1% de los aislamientos de *Candida glabrata* (9/64) y el 1.6% de los de *C. albicans* (1/64) presentaron susceptibilidad a FLU dependiendo de la dosis. El 1.6% de los aislamientos de *C. tropicalis* (1/64) fueron susceptibles a ITR dependiendo de la dosis.

**Gráfica 3.** Susceptibilidad antifúngica de los aislamientos de *Candida* provenientes de las personas viviendo con VIH/sida (PVVS) (N=64)



Fuente: datos experimentales FLU= fluconazol, ITR= itraconazol, 5 FC= 5-fluorocitosina, VOR= voriconazol, S= sensible, SDD=sensible dependiente de la dosis, R=resistente, I=intermedio

## 5. DISCUSION

En el grupo de pacientes en estudio se aisló en forma predominante 76.4% de *C. albicans* (52/68), seguido por 14.7% de *C. glabrata* (10/68), 4.4% de *C. tropicalis* (3/68), 2.9% de *C. dubliniensis* (2/68) y el 1.4% de *C. parapsilosis* (1/68). Fueron identificadas por primera vez en Guatemala dos cepas de *C. dubliniensis* (3%) provenientes de la mucosa oral mediante pruebas fenotípicas, aunque solo con pruebas genotípicas podría confirmarse esta nueva especie con base en la especificidad que poseen las pruebas moleculares (3, 4).

Los datos obtenidos son consistentes con un estudio en África del Sur, en el que se obtuvieron 78.6% de aislamientos de *C. albicans* y 21.4% de otras especies de *Candida*. En este estudio las especies de *Candida* no *albicans* aisladas fueron *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* y *C. dubliniensis* (12). Especies que también fueron aisladas en esta investigación con excepción de *C. krusei* la cual no fue aislada en ninguno de los participantes. En un estudio semejante llevado a cabo en México se reportó que *C. glabrata* fue la especie de *Candida* no *albicans* más frecuentemente aislada en la infección oral de los pacientes con sida (18.7%), seguida por *C. tropicalis* (5.9%) (1). Estos datos son similares a los obtenidos en el presente estudio.

No se poseen registros epidemiológicos confiables en cuanto a la presencia de la candidiasis oral en pacientes VIH positivos de Guatemala. Estudios en otros países señalan que las variantes clínicas de candidiasis eritematosa y atrófica aguda son las más frecuentes, seguida por las formas pseudomembranosa y queilitis angular, la variante hiperplásica es la menos común (13, 14).

En este estudio se observó que la candidiasis

pseudomembranosa (PSC), fue la predominante, seguida por la forma eritematosa (EC) y queilitis angular (QA). Estos resultados son semejantes con los de Venezuela excepto en el caso de la forma eritematosa que fue la menos frecuente en dicho país (15). Algunas publicaciones recientes han evidenciado que la candidiasis eritematosa suele ser la forma más frecuentemente subdiagnosticada en las manifestaciones orales del VIH (16).

La candidiasis oral es la infección oportunista más común observada en PVVS ya que se ha encontrado en pacientes con un recuento de células CD4+ incluso de 400; más del 90% de estas personas han sufrido un episodio de candidiasis oral durante el transcurso del desarrollo del sida y se considera un importante marcador de progresión de la infección viral; datos similares a los de la presente investigación (18, 19). En su mayoría los pacientes de este estudio poseían recuentos bajos de linfocitos ( $<2,000/\text{mm}^3$ ), recuento de células CD4+/ml disminuido y la carga viral aumentada. A este hecho también se le atribuye el alto porcentaje de aislamientos de *Candida* no *albicans* que generalmente pueden estar colonizando la cavidad oral en personas que no poseen VIH y se convierten en potenciales patógenos cuando hay supresión de la inmunidad de la mucosa oral (20).

La carga viral fue reducida por la utilización de terapia antirretroviral (ARV) y favoreció el proceso de reconstitución inmune. Recientes datos experimentales han mostrado que algunas moléculas antirretrovirales relacionadas a los inhibidores de proteasas también pueden interferir en la infección por *Candida* mediante inhibición de proteasas fúngicas secretorias. Algunas de estas enzimas son similares a las proteasas del VIH y se ha demostrado que poseen un papel patogénico en la invasión de las mucosas (1). La mayoría de pacientes incluidos

en este estudio (45/56, 80%) no se encontraba bajo ningún tratamiento, básicamente por ser pacientes recién diagnosticados (20).

Las coinfecciones más observadas en este estudio fueron las infecciones fúngicas debidas a: *H. capsulatum*, *C. neoformans* y *Pneumocystis jiroveci*, seguidas por las coinfecciones bacterianas, principalmente *M. tuberculosis*. Sobre estos datos se posee un subregistro en Guatemala por ello no se mencionan los datos regionales. Sin embargo, en una revisión llevada a cabo en Venezuela se encontró coinfección en 43 de los 419 pacientes en estudio con sida; los cuales presentaban diagnóstico de enfermedad micótica profunda tales como histoplasmosis, criptococosis, paracoccidioidomicosis y candidiasis sistémica (21). Estos datos son semejantes a los hallazgos de esta investigación con excepción de la paracoccidioidomicosis y la candidiasis sistémica, las cuales no fueron observadas.

Los tratamientos tópicos sugeridos para casos leves y moderados de candidiasis eritematosa y pseudomembranosa incluyen nistatina en suspensión oral o bien la utilización de óvulos de nistatina. En casos severos se recomienda la utilización de fluconazol o itraconazol. Estos dos últimos medicamentos deben reservarse para aquellos casos en los que haya fallado el tratamiento tópico con nistatina. La acción sistémica del fluconazol y del itraconazol pueden retrasar el diagnóstico de otras enfermedades fúngicas sistémicas como la criptococosis y la histoplasmosis (22).

En cuanto a susceptibilidad se pudo determinar que *C. glabrata* presentó resistencia a FLU e ITR en tanto que *C. albicans* solamente presentó resistencia a ITR. Estos resultados son semejantes a los reportados en un estudio en México en el que se encontró resistencia a itraconazol en los aislamientos

de *C. albicans* y *C. glabrata* ( 8.1% y 20%, respectivamente) (1). En dicho estudio también se observó resistencia de *C. glabrata* a fluconazol (5.7%). Algunos reportes indican que *C. glabrata* puede presentar resistencia intrínseca a los azoles y los factores asociados a ello incluyen la exposición previa y recuentos de células CD4+ bajos. Además se ha descrito que en general las especies de *Candida* no *albicans* pueden presentar fácilmente resistencia a los azoles (1, 16).

Ninguna de las otras especies presentó resistencia a los antifúngicos ensayados. Solamente presentaron susceptibilidad dependiendo de la dosis a FLU *Candida glabrata* y *C. albicans* y el 1.6% (1/68) de *C. tropicalis* mostró susceptibilidad a ITR dependiendo de la dosis. En general, los patrones de susceptibilidad de los aislamientos guatemaltecos no difieren de aquellos obtenidos en México, Estados Unidos y Canadá. Sin embargo, se observa mayor número de cepas susceptibles incluso más que en los aislamientos mexicanos, probablemente porque la mayoría de los pacientes eran tratados por primera vez con los medicamentos evaluados (1, 2). A pesar de que varios estudios han dado mucha importancia al aislamiento de *C. dubliniensis* por ser la nueva especie de *Candida* asociada a candidiasis oral en PVVS, ninguna de las cepas aisladas de esta especie mostró resistencia. Los datos obtenidos son semejantes a los obtenidos en Irlanda en donde se demostró que esta especie posee susceptibilidad inherentemente a los antifúngicos comúnmente utilizados y su resistencia se presenta cuando se induce por la exposición a la droga (23). En conclusión, puede mencionarse que este estudio es el primer registro donde se describen a las diferentes especies de *Candida* en personas que viven y conviven con el VIH/sida en Guatemala con sus perfiles de susceptibilidad a los antifúngicos y

en el cual se reporta la nueva especie de *Candida* (*C. dubliniensis*) asociada a esta infección en dicho país, la cual fue identificada con pruebas fenotípicas. Además de reportarse la Candidiasis pseudomembranosa, como el tipo de manifestación oral predominante en los participantes de la presente investigación.

## 6. AGRADECIMIENTOS

Esta investigación fue financiada por la Clínica Familiar "Luis Ángel García", Asociación de Salud Integral del Hospital General San Juan de Dios. Se agradece el apoyo y la colaboración recibida por el personal del Laboratorio de Tuberculosis y Hongos y la Clínica Familiar "Luis Ángel García", Asociación de Salud Integral (Hospital General San Juan de Dios).

A la Dra. Annette W. Fothergill, M.A., M.B.A., MT (ASCP), CLS. (NCA), Technical Supervisor, Fungus Testing Laboratory Department of Pathology University of Texas Health Science Center, San Antonio San Antonio, Texas.

## 7. REFERENCIAS

1. Sánchez LO, *et al.* Point Prevalence, Microbiology and Antifungal Susceptibility Patterns of Oral *Candida* Isolates Colonizing or Infecting Mexican HIV/AIDS Patients and Healthy Persons. *Rev Iberoam Micol* 2005; 22: 83-92.
2. Pfaller MA, *et al.* International Surveillance of Bloodstream Infections due to *Candida* Species: Frequency of Occurrence and Antifungal Susceptibilities of Isolates Collected in 1997 in the United States, Canada and South America for the SENTRY Program. *J Clin Microbiol* 1998; 36: 1886-1889.
3. Ellepola ANB, *et al.* Rapid and Unequivocal Differentiation of *Candida dubliniensis* from other *Candida* Species Using Species-specific DNA Probes: Comparison with Phenotypic Identification Methods. *Oral Microbiol Immunol* 2003; 18: 379-388.
4. Sullivan D, Coleman D. *Candida dubliniensis*: Characteristics and Identification. *J Clin Microbiol* 1998; 36(2): 329-334.-
5. Coleman D, *et al.* Candidiasis: The Emergence of a Novel Species, *Candida dubliniensis*. *Official J Internat Aids Society* 1997; 11(5): 557-567.
6. Ramage G, Biofilm Formation of *Candida dubliniensis*. *J Clin Microbiol* 2001; 39(9): 3234-3240.
7. Mosca C, *et al.* Casein Agar: a Useful Medium for Differentiating *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J Clin Microbiol* 2002; 41(3): 1259.
8. Kirkpatrick W, *et al.* Detection of *Candida dubliniensis* Oropharyngeal Samples from Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients in North America by Primary CHROMagar *Candida* Screening and Susceptibility Testing of Isolates. *J Clin Microbiol* 1998; 36(10): 3007-3012.
9. Henry J, *et al.* El Laboratorio en el Diagnóstico

- Clínico. España: Editorial Marbán Libros, Tomo 2, 2005. 1504p. (p. 1172-1173).
10. Gutierrez J, *et al.* Evaluation of the ATB 32 C, Automicrobic System and API 20 C Using Clinical Yeast Isolates. *Ann Biol Clin* 1994; 50:443-446.
  11. Fothergill AW, Rinaldi MG. Comparative Evaluation of Macrodilution and Alamar Colorimetric for Antifungal Susceptibility Testing of Yeast Isolates. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 2660-2664.
  12. Patel M, *et al.* Effect of Antifungal Treatment on the Prevalence of Yeasts in HIV-Infected Subjects. *J Med Microbiol* 2006; 55: 1279-1284.
  13. Samaranayake LP, *et al.* Oral Candidiasis and Human Immunodeficiency Virus Infection. *J Oral Pathol Med* 1989; 18: 554-564.
  14. Syrjanen S, *et al.* Oral Candida Infection as Sign of HIV Infection in Homosexual Men. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1988; 65: 36-40.
  15. Oliver M, *et al.* Serotipos de *Candida albicans* Aislados en Pacientes VIH Positivos. *Rev Iberoam Micol* 1999; 16: 204-207.
  16. Reznik DDS, David A. Perspective: Oral Manifestations of HIV Disease. *IAS-USA* 2005; 13(5): 143-148.
  17. Samayoa B, Arathoon E, *et al.* The Emergence of AIDS in Guatemala: Impatient Experience at the Hospital General San Juan de Dios. *International J STD & AIDS* 2003; 14: 810-813.
  18. Richardson MD, Warnock DW. *Fungal Infection: Diagnosis and Management*. London: Blackwell Scientific Publications, 1993.
  19. Flores Z, *et al.* Candidiasis Esofágica en Pacientes con SIDA. Estudio Clínico y Microbiológico. *Rev Cubana Med Trop* 1997; 50(2): 110-114.
  20. Gottfredsson M, *et al.* Association of Plasma Levels of Human Immunodeficiency Virus Type 1 RNA and Oropharyngeal *Candida* Colonization. *J Infect Dis* 1999; 180: 534-537.
  21. Fernández R, Mandel S. Micosis Profundas en Pacientes con SIDA. *Rev Soc Ven Microbiol* 1990; 17.
  22. Salazar A, *et al.* Guía de Tratamiento Antirretroviral y de Infecciones Oportunistas en Guatemala. *Progr Nac ITS, VIH y SIDA*. Guatemala: Ministerio de Salud Pública, 2006.
  23. Moran G, *et al.* Antifungal Drug Susceptibilities of Oral *Candida dubliniensis* Isolates from Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Infected and Non-HIV-Infected Subjects and Generation of Stable Fluconazole-Resistant Derivatives *in Vitro*. *Anti Agents Chemo* 1997; 41(3): 617-623.