

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE NICARAGUA, LEÓN  
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS  
DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA  
MAESTRÍA EN MICROBIOLOGÍA MÉDICA



Tesis para optar al título de Máster en Ciencias con mención en Microbiología Médica

*“Estudio clínico, epidemiológico y de laboratorio de la vulvovaginitis asociada a levaduras en mujeres mayores de 15 años de la ciudad de León, Nicaragua, durante el período octubre – diciembre 2013”*

**Autora:** Lic. Kenia Abigail Castro Rodríguez  
Profesor adjunto, Dpto. Microbiología y Parasitología  
Facultad de Ciencias Médicas  
UNAN, León

**Tutora:** Lic. María del Rosario Palma, Msc.  
Profesora titular, Dpto. Microbiología y Parasitología  
Facultad de Ciencias Médicas  
UNAN, León

León, Febrero de 2014

“A la libertad por la universidad”

*Para mi madre Estela Rodríguez mi más fiel amiga y  
para mi hijo Sebastián Gutiérrez la inspiración de mi vida.*

*“Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad para  
penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber”*

**Albert Einstein**

## AGRADECIMIENTOS

A Jehová Dios primeramente por darme la oportunidad de realizar este trabajo. Gracias.

Quiero agradecer a todas las personas que directamente o indirectamente contribuyeron a la realización de esta tesis:

**Lic. Rosario Palma, MSc.** Mi tutora, quien me dio conocimientos científicos, me impulsó a seguir estudiando y contribuyó a mi formación íntegra como persona. Gracias por su invaluable amistad y enseñanza. *¡Mi admiración hacia usted!*

**Dr. Samuel Vilchez.** Jefe del Dpto. de Microbiología y Parasitología. Quien me dio la idea inicial de realizar este trabajo e iniciar esta maestría. Gracias por el apoyo que el Departamento proporcionó con reactivos, materiales, etc., para la realización de este trabajo.

A las estudiantes de Bioanálisis Clínico, **Karla, Edmy, Rosa, Judith y Fany;** por su colaboración en la recolección y procesamiento de las muestras.

A **Martha Galo, Erick, Delia y Sofía.** Trabajadores administrativos del Departamento. Quienes contribuyeron amablemente en la parte administrativa de este trabajo: fotocopias, resultados de exámenes, impresiones, escáner, etc. Gracias por su amistad!

**Lic. Edelma Corrales, MSc.** Quien me dio la oportunidad por primera vez de entrar al mundo de la investigación científica y de la enseñanza. Gracias por su invaluable amistad y enseñanza. *¡Mi admiración hacia usted!*

**Lic. William Morales, MSc.** Por su invaluable aporte científico en la realización de este trabajo y por su gran apoyo y respuestas científicas a todas mis preguntadas realizadas. Muchísimas gracias. *¡Mi admiración hacia usted!*

A **Cándida, Antonia, Edwin, Raymundo, Jair.** Trabajadores del laboratorio de microbiología quienes amablemente me proporcionaron material de trabajo cuando lo necesité y han contribuido a mi aprendizaje.

A los profesores del Departamento de Microbiología y parasitología quienes han contribuido a mi formación desde el inicio de mi carrera y que ahora son mis colegas: **MSc. Elizabeth, MSc. Ana Esther, MSc. Isabel, MSc. Eugenia, Dra. Margarita, Dr. Félix, Dr. Filemón, Dr. Daniel, Dr. Erick, Dr. Samuel, Dra. Mercedes, Dra. Teresa A., Dra. Alleyda, Dr. Byron, MSc. Silda, MSc. Teresa S., MSc. Gilda, MSc. Rosemelina, MSc. Lesbia, MSc. Marcia, MSc. Patricia H., MSc. Azucena, MSc. Yaoska, MSc. Patricia.** También, gracias al **Lic. Haroldo Argeñal y Dra. Indiana López** por la enseñanza estadística.

A las autoridades de la Facultad de Ciencias Médicas, quienes me otorgaron el permiso para estudiar la maestría contribuyendo a mi formación académica: **Dr. Armando Matute, Dra. Lilliam López y MSc. Orlando Mayorga.**

A mis compañeros de maestría, con quien compartí experiencias, conocimientos, alegrías, tristezas, incertidumbres, etc.: **Ligia, Fredman, Marisol, Elohina, Claudia, Miguel, Luvy.**

A mi familia: mi mamá **Estela** por enseñarme con paciencia la importancia de seguir estudiando y preparándome académicamente, mis hermanos **Ilich y Mara** por su apoyo, **Mynor** por apoyarme siempre en mis estudios y por su invaluable amistad. Mi papá **Marvin** por su apoyo económico en mi crecimiento académico.

En fin a todas aquellas personas que de una u otra forma me apoyaron para la realización de este trabajo.

*A todos infinitas gracias y que Dios los bendiga.*

---

*Este trabajo se realizó gracias a la colaboración de Dpto. Microbiología y Parasitología de la Facultad de Ciencias Médicas de la UNAN, León y la de mis Padres.*

# PRESENTACIÓN

## **Estimado(a) lector(a):**

El documento que usted tiene en sus manos, es producto de un esfuerzo realizado por una estudiante de la Maestría en Microbiología Médica, la cual es ofertada por el Dpto. de Microbiología y Parasitología de la UNAN – León, quien con mucha diligencia realizó un estudio titulado: “ESTUDIO CLÍNICO, EPIDEMIOLÓGICO Y DE LABORATORIO DE LA VULVOVAGINITIS ASOCIADA A LEVADURAS EN MUJERES MAYORES DE 15 AÑOS DE LA CIUDAD DE LEÓN, NICARAGUA, DURANTE EL PERÍODO OCTUBRE – DICIEMBRE 2013”. El tema abordado me involucra como profesional de las Ciencias de la Salud de la UNAN, así como también al Ministerio de Salud y a la sociedad, principalmente a las mujeres que son las que sufren mayormente las consecuencias de esta infección.

Esta tesis, le presenta la epidemiología de la infección a nivel mundial, los mecanismos patogénicos utilizados por las levaduras, las características clínicas de la infección, la respuesta inmune del huésped, el diagnóstico utilizado en la infección, el tratamiento de esta y los resultados obtenidos en esta investigación. No se considera que sea el más acertado de los trabajos, pero sí un esfuerzo en aportar más conocimiento sobre las infecciones vaginales producidas.

*Lic. Kenia Castro*

## RESUMEN

Las infecciones vaginales asociadas a levaduras, es un problema de salud mundial que se presenta en el 75% de las mujeres. Por tal razón, con el objetivo de describir las características clínico, epidemiológicas y de laboratorio de la vulvovaginitis asociada a levaduras en mujeres mayores de 15 años, de la ciudad de León, se tomaron un total de 391 muestras de exudados vaginales y se analizaron con el método de Rapid Yeast Plus System (oxid). Se obtuvo una prevalencia del 27%, siendo más frecuente en mujeres de 15 a 30 años de edad (34%,  $p = 0.002$ ), con nivel de escolaridad de técnico medio o superior (38%), estado civil “acompañada” (30%) y con distintas ocupaciones (35%). Los principales factores predisponentes identificados fueron: embarazo (36%), diabetes (54%), uso de anticonceptivos (43%), uso de ropa interior de nailon o ajustada (31%) y el haber presentado de 2 a 4 episodios de vaginitis en el último año (53%). Las manifestaciones clínicas presentadas por estas mujeres, fueron similares entre las especies de levaduras identificadas y son: picazón (55%), ardor y sensación de quemazón (48%) e irritación (39%), con un flujo de color blanquecino (97%), de aspecto homogéneo (77%) y moderada cantidad (39%). Las levaduras identificadas fueron: *C.albicans* (70%), *C. glabrata* (19%), *S.cerevisiae* (4%), *C. parapsilosis* (3%), *C. krusei* (2%), *C. tropicalis* (1%) y *T. asahii* (1%). *C.glabrata* fue más común en mujeres mayores de 61 años y las otras especies en mujeres entre 15 – 45 años de edad. *T. asahii* y *C. tropicalis* pertenecían a mujeres que tenían una vida sexual activa con 2 ó más parejas ( $p = 0.028$ ). *C. krusei*, *S. cerevisiae*, *C. glabrata* y en menor porcentaje *C. albicans* se aislaron de pacientes con vaginitis recurrente. Se recomienda realizar estudios de cohorte que permitan la identificación de factores de riesgos y realizar el perfil de resistencia a los anti fúngicos de elección, de las levaduras identificadas.

**Palabras claves:** *Candida*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Trichosporon asahii*, candidiasis vulvovaginal, epidemiología.

# ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.	ANTECEDENTES.....	3
3.	JUSTIFICACIÓN.....	5
4.	PREGUNTA.....	6
5.	OBJETIVOS.....	7
5.1	General .....	7
5.1.2	Específicos: .....	7
6.	MARCO TEÓRICO .....	8
6.1	Generalidades .....	8
6.2	Epidemiología de la vaginitis asociada a levaduras .....	9
6.2.1	Factores de riesgo asociados a la aparición de candidiasis vaginal.....	15
6.3	Mecanismos patogénicos.....	18
6.3.1	Polimorfismo:.....	18
6.3.2	Adhesinas e invasión .....	19
6.3.3	Formación de biopelículas.....	20
6.3.4	Sensores de contacto y tigmotropismo .....	21
6.3.5	Secreción de hidrolasas .....	21
6.3.6	Sensores de pH y regulación .....	21
6.3.7	Adaptación metabólica.....	22
6.3.8	Respuesta al estrés ambiental.....	23
6.3.9	Proteínas de choque térmico.....	25
6.3.10	Proteínas pequeñas de choque térmico.....	26
6.3.11	Adquisición de metal.....	27
6.4	Características clínicas .....	28
6.5	Inmunología de la infección vaginal por levaduras.....	29
6.6	Identificación de las levaduras causantes de infección vaginal.....	33
6.6.1	Identificación mediante criterios morfológicos.....	33
6.6.2	Identificación mediante criterios bioquímicos .....	36
6.6.3	Identificación basada en métodos de asimilación de nutrientes .....	41
6.6.4	Sistemas semiautomáticos .....	43

6.6.5	Sistemas automáticos .....	44
6.6.6	Identificación rápida de levaduras mediante pruebas bioquímicas y enzimáticas.....	45
6.6.7	Identificación mediante criterios inmunológicos .....	46
6.6.8	Identificación mediante pruebas moleculares.....	47
6.7	Tratamiento .....	47
7.	MATERIALES Y MÉTODOS .....	49
8.	RESULTADOS .....	56
9.	DISCUSIÓN.....	65
10.	CONCLUSIONES.....	73
11.	RECOMENDACIONES .....	74
12.	BIBLIOGRAFIA.....	75
	<i>ANEXOS</i> .....	93

# 1. INTRODUCCIÓN

Las infecciones vaginales asociadas a levaduras, es un problema de salud mundial que ha tomado importancia en los últimos 30 años y se han colocado en segundo lugar después de la vaginitis bacteriana <sup>1,2</sup>. Las principales levaduras que se han encontrado como causante de vaginitis han sido las del género *Candida*. Sin embargo, también se han asociado las del género *Rhodotorula*, *Trichosporon*, *Saccharomyces*, *Cryptococcus*, entre otras <sup>3,4</sup>. Estas últimas levaduras se han encontrado en casos clínicos específicos, en los que los pacientes presentaron condiciones particulares para el desarrollo de una infección. Algunas de éstas, como *Candida glabrata* <sup>5</sup> y *Trichosporon* <sup>6</sup>, se les han encontrado como causa de muerte fetal.

Las características clínicas de la vaginitis, presentada por las levaduras del género *Candida* no difieren mucho de las características presentadas por otras levaduras menos frecuentes, pero si difieren de las de etiología bacteriana o parasitaria. Por tal razón, la mayoría de las veces el diagnóstico se realiza solo con la clínica. Además al igual que sucede con muchas bacterias causantes de infecciones, las levaduras del género *Candida* forman parte de la flora normal de la piel y de las mucosas, incluyendo la mucosa vaginal. Debido a esto, para establecer un diagnóstico de candidiasis vaginal se deben tomar en cuenta los siguientes criterios: que las características clínicas de vaginitis estén presentes, la observación de levaduras al examen directo y el crecimiento de al menos 10 colonias levaduriformes en el cultivo de la muestra de exudado vaginal <sup>7</sup>.

La identificación del tipo de levadura es importante para el tratamiento de la vaginitis. Esto es porque algunas de las levaduras son intrínsecamente resistentes a algunos anti fúngicos. Este es el caso, por ejemplo, de *Candida glabrata*, que es la segunda causa en frecuencia de la candidiasis vaginal, es intrínsecamente resistente a los azoles y es la causa más común de candidiasis vaginal recurrente <sup>8</sup>. Otro ejemplo de levadura es *Saccharomyces cerevisiae* que presenta sensibilidad reducida a la mayoría de los azoles y puede ser resistente al fluconazol, por lo que su manejo terapéutico puede resultar menos eficaz en terapias antifúngicas de corta duración <sup>4</sup>.

Para establecer un diagnóstico de laboratorio se debe de obtener una muestra de las secreciones vaginales, cultivarla en agar sabourand e identificarlas. Existen métodos fenotípicos sencillos para su identificación como la filamentación en suero, crecimiento a diferentes temperaturas, CHROMAgar, entre otros; y métodos más sofisticados y costosos como el API o Rapid Yeast System. También existen métodos moleculares, pero que son mucho más costosos y sólo puede identificar un tipo de levadura a la vez <sup>9,10</sup>.

Este trabajo pretende realizar un estudio clínico, epidemiológico y de laboratorio para identificar las levaduras presentes en mujeres con vaginitis y relacionarlas con sus características clínicas y factores predisponentes; lo que será útil en el buen manejo y tratamiento adecuado.

## 2. ANTECEDENTES

La vaginitis asociadas a levaduras es una infección que se presenta al menos una vez en la vida del 75% de las mujeres y en el 40-45% de estas se presentarán más de dos episodios <sup>11</sup>. El principal hongo implicado es *Candida albicans* (70 – 80%), seguido de las especies de *Candida no albicans* <sup>1, 12</sup>. En España se ha reportado casos de vaginitis asociada a levaduras que se consideraban inocuas, como es el caso de *Saccharomyces cerevisiae* <sup>13</sup>. Otra importante levadura patógena emergente es *Trichosporon asahii*, la cual ha sido encontrada en vagina hasta en un 14%, siendo una fuente de colonización en recién nacidos y reportada como causa de muerte fatal en un bebe prematuro <sup>6</sup>. Un 10% de mujeres que desarrollan infección vaginal asociada a levaduras presentan factores de riesgo, tales como el uso de anticonceptivos hormonales, embarazo, uso de antibióticos de amplio espectro, entre otros <sup>2, 14</sup>.

Guzel A. y cols., (2010), evaluaron los factores de riesgos asociados a candidiasis vaginal y realizaron la presuntiva identificación de las levaduras, en mujeres que asistieron al hospital materno infantil en Cukurova, Turquía; encontraron factores de riesgo como: el uso de antibióticos, la presencia de dispositivos intrauterinos, laceraciones, la corta distancia ano-vaginal (< 3 cm) y la depilación en áreas comunes; además detectaron que el uso de toallas menstruales y el ser multíparas aumentaban el riesgo de padecer una infección vaginal recurrente, no así el uso de protectores diarios que disminuyó significativamente el riesgo de una infección vaginal aguda o recurrente. Las levaduras encontradas en 234 aislados fueron: *C. albicans* (n = 118), *C. glabrata* (n = 82), *C. kefyr* (n = 11), *C. krusey* (n = 9), *C. lipolytica* (n = 3), *C. colliculosa* (n = 2), *C. parapsilosis* (n = 2), *C. pelliculosa* (n = 2), *C. tropicalis* (n = 2) y otras especies de *Candida* (n = 3) <sup>15</sup>.

Martins H. y cols., (2009), estudiaron 932 mujeres de Brasil con síntomas de vulvovaginitis y aislaron levaduras en un 12.2% (114/932). De estas, el 53.2% fue *Candida albicans*, 27% *C. glabrata*, 13.5% *C. tropicalis* y 6.3% *C. parapsilosis* <sup>16</sup>. En ese mismo país, Mascarenhas R. y cols., (2012) encontraron una prevalencia de candidiasis vaginal del 22% en adolescentes sexualmente activos y el 2% de estos presentaban coinfecciones con *Trichomonas* y bacterias;

como factores de riesgos encontraron el uso de alcohol, tabaco, drogas ilegales y el tener múltiples parejas sexuales <sup>17</sup>.

Llovera V. y cols., (2004), encontraron un 34.16% (138/404) de vaginitis asociadas a levaduras en mujeres que asistieron al Laboratorio de Microbiología del hospital Gineco-Obstrético "Ramón González Coro" de la Ciudad de La Habana. Se identificaron 3 géneros: *Candida* (88.49%), *Trichosporon* (10.79%) y *Rhodotorula* (0.72%). Dentro del género *Candida*, las principales encontradas fueron *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* y *C.tropicalis*. El prurito y el ardor mostraron significación estadística ( $p < 0.01$ ); el embarazo, el uso de dispositivo intrauterino (DIU) y la terapia con antibacterianos resultaron los factores de riesgo más frecuentes en relación con la presencia de *Candida* en la vagina.<sup>3</sup>

Arechavala A. y cols., (2007) identificaron levaduras en 94 pacientes con vulvovaginitis aguda en Argentina. Obtuvieron 100 cepas, de los cuales el 86% correspondía a *C. albicans*, el 6% a *C.glabrata*, y el resto se identificaron como *Candida inconspicua* (3%), *Candida krusei* (2%), y *Candida intermedia*, *Candida holmii* y *Trichosporon asahii* con un único aislamiento cada una (1%).<sup>18</sup>

Posteraro B. y cols.,(1999) encontraron una prevalencia de 5.8% de *S. cerevisiae* en 513 mujeres de la ciudad de Roma <sup>19</sup>. También McCullough M. y cols., (1998) encontraron un 0.4% de *S.cerevisiae* en 4,943 mujeres de la ciudad de Bergamo en Italia <sup>20</sup>.

García M. y cols., describieron dos casos en el año 1996 y nueve casos en el año 2000 de infección vaginal asociada a *Saccharomyces cerevisiae* en España.<sup>21, 22</sup>. Además Sanz F. y Pazos C. reportaron un caso en el año 2000 y otro en el 2001 en ese mismo lugar.<sup>4</sup>

Darce M. y cols., (2002) encontraron una prevalencia de 41% en 106 mujeres con y sin vaginitis en Nicaragua, diagnosticadas mediante examen microscópico, cultivo y el medio diferencial CHROMagar. Las levaduras encontradas fueron *C. albicans* (59%), *C. tropicalis* (23%), *C.glabrata* (14%) y *C. krusei* (4%).<sup>23</sup>

### 3. JUSTIFICACIÓN

Entre el 40% al 50% de las mujeres con vaginitis asociada a levaduras, desarrollan episodios recurrentes de esta infección; y en el 5% de estas, las recurrencias se presentarán en más de 4 episodios al año. Estas recurrencias no son de fácil erradicación, principalmente cuando están relacionadas a condiciones más serias, como la infección por VIH o diabetes <sup>1, 24</sup>. Sin embargo, una vaginitis recurrente también puede estar relacionada con la especie de levadura que la cause. Se sabe por estudios *in vitro* que *Candida glabrata*, la levadura que le sigue en frecuencia a *Candida albicans*, es intrínsecamente resistente a los azoles, que son los antimicóticos de primera elección y se le ha relacionado con casos pérdida fetal intrauterina <sup>5, 8</sup>. Así mismo, *Candida krusei* y *Saccharomyces cerevisiae* presentan sensibilidad reducida a los azoles y pueden ser resistente al fluconazol <sup>4</sup>.

Los estudios antes mencionados muestran la necesidad de investigar, no solo las especies de levaduras del género *Candida*, sino también identificar otros géneros de levaduras asociadas a vaginitis que afectan a esta población en nuestro medio y sus principales factores predisponentes; además este estudio contribuirá a la actualización del comportamiento clínico y epidemiológico de la vaginitis en la ciudad de León, Nicaragua y posiblemente al tratamiento de esta entidad.

#### **4. PREGUNTA**

¿Cuáles son las características clínico, epidemiológicas y de laboratorio de la vulvovaginitis asociada a levaduras en mujeres mayores de 15 años de la ciudad de León, Nicaragua, durante el período de octubre - diciembre 2013?

## **5. OBJETIVOS**

### **5.1 General**

Describir las características clínico, epidemiológicas y de laboratorio de la vulvovaginitis asociada a levaduras en mujeres mayores de 15 años de la ciudad de León, Nicaragua, durante el período de octubre – diciembre de 2013.

#### **5.1.2 Específicos:**

- Describir las características clínicas y epidemiológicas de las mujeres que presentan vulvovaginitis asociada a levaduras.
- Identificar género y especie de levaduras aisladas mediante pruebas morfológicas, bioquímicas y enzimáticas
- Relacionar las especies de levaduras identificadas, con las características clínicas y epidemiológicas de las mujeres estudiadas.

## 6. MARCO TEÓRICO

### 6.1 Generalidades

La vulvovaginitis causada por levaduras es una micosis de distribución mundial producida principalmente por levaduras del género *Candida*, las cuales forman parte de la flora normal de la vagina de la mujer. Ocasionalmente, debido a procesos multifactoriales, hay una alteración del equilibrio entre el huésped y comensal produciéndose la enfermedad, cuya prevalencia varía entre un 14% y 20%, pudiendo llegar hasta un 30% en mujeres embarazadas <sup>2</sup>.

Las levaduras pueden definirse en términos amplios, como hongos con morfología unicelular que se reproducen por gemación o fisión. Esta definición es aplicable a los miembros del género *Candida*, así como a cualquiera de los géneros clásicos tales como *Saccharomyces*. Son estructuras ovaladas o esféricas de paredes delgadas de 2-10 µm de diámetro, gemantes y con pseudomicelio <sup>2</sup> (Fig1).

Según la clasificación de Dixon, la taxonomía de las levaduras imperfectas es la siguiente <sup>25</sup>:

Grupo: Deuteromycota

Clase: Deuteromycetes

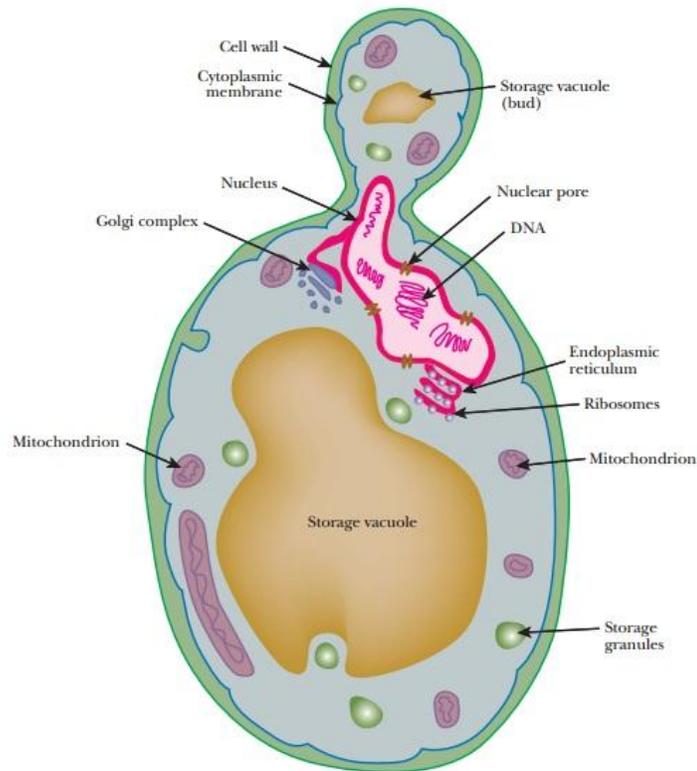
Orden: Cryptococcales

Levaduras imperfectas: *Candida*, *Cryptococcus*, *Trichosporon*, *Malassezia*

Las especies comúnmente asociadas a la infección vaginal por *Candida* son *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei* y *C. guilliermondi*. Hay que tener en cuenta la existencia de más de 100 diferentes especies de cándida. La incidencia de *Candida* no-*albicans*, principalmente *C. glabrata*, está en auge y puede ser la causa de vulvovaginitis candidiásica recurrente y resistente a fármacos. Entre 1988 y 1995, las candidiasis vulvovaginal debidas a especies no *albicans* aumentaron de 9,9% a 17,2%; las especies no *albicans* son también responsables de 32% de las infecciones recurrentes.

También existen otras levaduras asociadas a vulvovaginitis, que pertenecen a otros géneros, entre ellas están *Saccharomyces cerevisiae*, levaduras del género *Trichosporon*, *Rhodotorula* y ocasionalmente *Cryptococcus*.

**Fig 1. Estructura de una levadura** <sup>26</sup>



## **6.2 Epidemiología de la vaginitis asociada a levaduras**

La vulvovaginitis candidiásica (VVC) es un proceso muy común en las mujeres adultas, con un pico máximo de incidencia entre los 20 y 40 años. Se calcula que a los 25 años, el 50% de las mujeres habrá tenido al menos un episodio de VVC <sup>27, 28</sup>, y que entre las mujeres premenopáusicas, el 75% habrá sufrido al menos un episodio de VVC y el 45% 2 episodios o

más <sup>29</sup>. A su vez, se estima que el 5% de las mujeres con VVC acabará presentando una VVC recurrente (VVCR) <sup>30,31</sup> y que el 5-8% de todas las mujeres adultas tendrá una VVCR <sup>32</sup>.

Además de los factores de riesgos asociados (descritos más adelante), se ha hablado de la posibilidad de reinfección a partir de un reservorio en el que quedaría acantonada la *Candida*, como en el aparato digestivo o urinario o en dispositivos como un DIU <sup>33,34</sup> o un anillo vaginal <sup>35</sup>. Aunque esta causa no ha sido totalmente demostrada, es frecuente hallar la misma especie de cándida en las recurrencias que en episodios previos <sup>36</sup> lo que iría a favor de un origen endógeno de la recurrencia. Por el contrario, el contagio a partir de una pareja sexual permanentemente infectada o colonizada no ha sido demostrada y, de hecho, el tratamiento de estas parejas no ha mostrado una mejoría evidente <sup>37</sup>.

En cuanto a la deficiencia inmunológica como origen de la VVCR, existe la posibilidad de que una respuesta inmunológica excesiva o escasa se encuentre como base en estos cuadros recurrentes <sup>32</sup>. Por un lado se ha descrito una deficiencia específica frente a la cándida, la llamada «tolerancia inmunológica de la vagina frente a la *Candida*», que le permitiría germinar y proliferar de forma incontrolada <sup>38</sup>. Sin embargo, también se ha argumentado que podría haber «una respuesta inmunológica exacerbada frente a la *Candida*» <sup>38</sup>, y de hecho, muchas de las pacientes con VVCR padecen atopia <sup>39</sup> y hasta el 70% rinitis alérgica <sup>40</sup>. También se ha observado cierta predisposición a la candidiasis en mujeres en las que faltan los antígenos a y b del sistema Lewis <sup>41-43</sup>; según Tosh F. y Douglas L., estos antígenos están formados en su mayoría por el azúcar fucosa, que inhibe *in vitro* la adhesión de *Candida spp* al epitelio vaginal humano <sup>44</sup>. Por otro lado, se han detectado polimorfismos en determinados genes y alteraciones de la inmunidad innata que podrían jugar un papel importante en la génesis de la VVCR <sup>45</sup>. Se ha propuesto una hipótesis patogénica de la VVCR, según la cual partiendo de una predisposición genética y actuando factores del propio huésped y de su comportamiento, se llega a la colonización vaginal por la *Cándida*, y a partir de ahí, bien de forma idiopática o también con el concurso de factores de la propia mujer y su comportamiento puede producirse la recurrencia <sup>46</sup>.

Foxman B. (1990) identificó factores de riesgo en un estudio caso control sobre candidiasis vulvovaginal en la Universidad de Michigan, USA, encontrando principalmente como factor de

riesgo el mantener relaciones sexuales más de siete veces por semana (OR = 4.3) <sup>47</sup>. Por otro lado, Reed B. (1992) describió en su artículo “factores de riesgos de la vulvovaginitis por *Candida*” que el uso reciente de antibióticos y anticonceptivos orales, la presencia de diabetes mellitus, las prácticas dietéticas, la colonización gastrointestinal por el organismo, las prendas de vestir y las prácticas de protección sanitarias, la transmisión sexual del organismo y defectos inmunológicos específicos son factores que predisponen a la infección <sup>48</sup>.

En Venezuela, Mendoza M. y cols., (1999) encontraron una prevalencia del 22% de levaduras en 105 pacientes con clínica de vaginitis que asistieron a la consulta de la Unidad de Enfermedades Infecciosas del Hospital Vargas referidas del Servicio de Ginecología. Las 23 levaduras identificadas fueron: 12 *C. albicans*, 5 *C. tropicalis*, 3 *C. guilliermondii*, 2 *C. glabrata* y 1 *C. parapsilosis*. Se identificaron, además, *C. albicans* pertenecientes a los serotipos A (58%) y B (42%) <sup>49</sup>.

Darce M. y cols., (2002) encontraron una prevalencia de 41% en 106 mujeres con y sin vaginitis en Nicaragua, diagnosticadas mediante examen microscópico, cultivo y el medio diferencial CHROMagar. Las levaduras encontradas fueron *C. albicans* (59%), *C. tropicalis* (23%), *C. glabrata* (14%) y *C. krusei* (4%). <sup>23</sup>

Llovera V. y cols., (2004), encontraron un 34.16% (138/404) de vaginitis asociadas a levaduras en mujeres que asistieron al Laboratorio de Microbiología del hospital Gineco-Obstétrico “Ramón González Coro” de la Ciudad de La Habana. Se identificaron 3 géneros: *Candida* (88.49%), *Trichosporon* (10.79%) y *Rhodotorula* (0.72%). Dentro del género *Candida*, las principales encontradas fueron *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*. El prurito y el ardor mostraron significación estadística ( $p < 0.01$ ); el embarazo, el uso de dispositivo intrauterino (DIU) y la terapia con antibacterianos resultaron los factores de riesgo más frecuentes en relación con la presencia de *Candida* en la vagina.<sup>3</sup>

En varios estados de USA, Trama J. y cols., (2005) recolectaron un total de 3,978 exudados vaginales, obteniendo una prevalencia del 33.1%; de estas el 80.2% era *C. albicans*, el 14.3% *C. glabrata*, el 5.9% *C. parapsilosis* y el 8% *C. tropicalis*. Ellos observaron que la frecuencia de

*C. albicans* ( $p < 0.001$ ) disminuía con la edad a medida que aumentaba la frecuencia de *C. glabrata* ( $p < 0.001$ ) y *C. parapsilosis* ( $p = 0.025$ )<sup>50</sup>. Igualmente Vermitsky J. y cols., (2008) encontraron aumento en las frecuencias de las especies no *albicans*, junto con la disminución de *C. albicans* a medida que aumentaba la edad de las mujeres de ese mismo país<sup>51</sup>.

Arechavala A. y cols., (2007) identificaron levaduras en 94 pacientes con vulvovaginitis aguda en la ciudad de Argentina. Obtuvieron 100 cepas, de los cuales el 86% correspondía a *Candida albicans*, el 6% a *C. glabrata*, y el resto se identificaron como *C. inconspicua* (3%), *C. krusei* (2%), y *C. intermedia*, *C. holmii* y *T. asahii* con un único aislamiento cada una (1%).<sup>18</sup>

Pam V. y cols., (2008) realizaron un estudio en estudiantes con infecciones vaginales de la escuela de enfermería de la universidad de Lagos, Nigeria. Mediante el método de API clasificaron las 28 cepas de levaduras aisladas como *C. albicans* (14), *C. tropicalis* (6), *C. glabrata* (2), *C. famata* (2) *C. kefyr* (2) y una de *C. parapsilosis* y *C. guilliermondii* respectivamente<sup>52</sup>.

Martins H. y cols., (2009), realizaron un estudio en Brasil, sobre la eficacia del tratamiento con fluconazol y nistatina en pacientes diagnosticadas mediante cultivo con candidiasis vaginal. Estudiaron 932 mujeres con síntomas de vulvovaginitis y aislaron levaduras en un 12.2% (114/932). De estas, el 53.2% fue *Candida albicans*, 27% *C. glabrata*, 13.5% *C. tropicalis* y 6.3% *C. parapsilosis*. La tasa de curación obtenida para *C. albicans* fue alta con fluconazol y nistatina. Sin embargo en las *Candidas* no *albicans* la tasa de curación con nistatina fue baja, no así para fluconazol cuya tasa fue excelente, difiriendo en este sentido con la mayoría de los estudios *in vitro*<sup>16</sup>. En este mismo país, Correa P. y cols., (2009) identificaron en 223 exudados vaginales captados en el Hospital de Base de San José de Río Preto, una frecuencia de 87 mujeres con cultivo positivos, de las cuales el 55% era sintomática, las principales levaduras en las mujeres sintomáticas fueron: *C. albicans* (87%) y *C. glabrata* (4%)<sup>53</sup>.

Ahmad A. y cols., (2009) en Aligarh-India identificaron una prevalencia de prevalencia del 20.47% de candidiasis vaginal. Las principales levaduras que encontraron fueron: *Candida albicans* (46.9%), *C. glabrata* (36.7%), *C. parapsilosis* (10.2%), *C. tropicalis* (2.8%), *C. krusei*

(1.4%) y *C. kiefner* (1.9%). Identificaron como factores predisponentes: el embarazo ( $p < 0.001$ ), el aumento de la paridad ( $p < 0.001$ ), el uso de anticonceptivos orales ( $p < 0.001$ ) y antibióticos ( $p < 0.001$ ). Los signos y síntomas más comunes fueron prurito con o sin flujo vaginal y eritema vaginal<sup>54</sup>.

Guzel A. y cols., (2010), evaluaron los factores de riesgos asociados a candidiasis vaginal y realizaron la presuntiva identificación de las levaduras, en mujeres que asistieron al hospital materno infantil en Cukurova, Turquía; encontraron factores de riesgo como: el uso de antibióticos, la presencia de dispositivos intrauterinos, laceraciones, la corta distancia ano-vaginal ( $< 3$  cm) y la depilación en áreas comunes; además detectaron que el uso de toallas menstruales y el ser multíparas aumentaban el riesgo de padecer una infección vaginal recurrente, no así el uso de protectores diarios que disminuyó significativamente el riesgo de una infección vaginal aguda o recurrente. Las levaduras encontradas en 234 aislados fueron: *C. albicans* (n = 118), *C. glabrata* (n = 82), *C. kefyr* (n = 11), *C. krusey* (n = 9), *C. lipolytica* (n = 3), *C. colliculosa* (n = 2), *C. parapsilosis* (n = 2), *C. pelliculosa* (n = 2), *C. tropicalis* (n = 2) y otras especies de *Candida* (n = 3)<sup>15</sup>.

Tchelougou D. y cols., (2011) muestrearon un total de 302 mujeres embarazadas que asistieron al Hospital de Sodoke en Togo e identificaron un 30.77% de candidiasis vaginal, encontrando el embarazo como un factor predisponente estadísticamente significativo ( $p = 0.05$ )<sup>55</sup>. Por otra parte, Villarrol P. (2011) identificó a *C. albicans* (62.1%), *C. glabrata* (34.9%) y *C. krusei* (3%) en exudados vaginales de pacientes que asistieron al hospital de German Urquidí de Colombia<sup>56</sup>.

Mascarenhas R. y cols., (2012) encontraron una prevalencia de candidiasis vaginal del 22% en adolescentes sexualmente activos en Brasil. Además el 2% de estos presentaban coinfecciones con *Trichomonas* y bacterias. Como factores de riesgos encontraron el uso de alcohol, tabaco, drogas ilegales y el tener múltiples parejas sexuales<sup>17</sup>.

En relación a *Saccharomyces cerevisiae*, García M. y cols., describieron dos casos en el año 1996 y nueve casos en el año 2000 de infección vaginal asociada a esta levadura en España.<sup>21, 22</sup>. Además Sanz F. y Pazos C. reportaron un caso en el año 2000 y otro en el 2001 en ese mismo

lugar <sup>4</sup>. Por otro lado, Nyirjesi P. y cols., (1995) encontraron una prevalencia del 1.1% de *Saccharomyces cerevisiae* en mujeres con vaginitis crónica Filadelfia, USA. En un caso pudo demostrarse que la cepa causal de un episodio de vaginitis era la misma que se obtenía de los dedos del esposo de la paciente y de la levadura con que este elaboraba pizza en un establecimiento de su propiedad <sup>57</sup>. También Wilson J. y cols., (1988) describieron un caso de una mujer que adquirió la levadura de su propia panadería y se la transmitió sexualmente a su esposo <sup>58</sup>.

Por otra parte, Posteraro B. y cols.,(1999) encontraron una prevalencia de 5.8% de *S. cerevisiae* en 513 mujeres de la ciudad de Roma <sup>19</sup>. También McCullough M. y cols., (1998) encontraron un 0.4% de *S. cerevisiae* en 4,943 mujeres de la ciudad de Bergamo en Italia <sup>20</sup>.

Anderson B. y cols., (2013) realizaron un estudio sobre los cambios inmunes que induce el embarazo en la protección de la mucosa vaginal; ellos encontraron que en las mujeres embarazadas había más concentraciones de proteínas inflamatorias como son la interleucina 1 $\beta$  y proteína C reactiva, además presentaban alteraciones en la flora normal, pues tenían menos cantidad de *Lactobacillus* ( $p=0.02$ ) que en las mujeres no embarazadas <sup>59</sup>. También Leli C. y cols., (2013) encontraron una mayor colonización de *Candida* en pacientes embarazadas (31.4%) que en las no embarazadas (19.9%); sin embargo, presentaban mayor sintomatología las pacientes no embarazadas <sup>60</sup>.

Por otro lado, Filippidi A. y cols., (2013) en su estudio sobre el efecto de la flora materna de *Candida* sobre el neonato, encontraron un total de 82 madres y 16 niños colonizados por especies de *Candida*. *C. albicans* fue la especie más común en las mujeres embarazadas ( $n = 68$ ), seguido de *C. glabrata* ( $n = 11$ ). Sólo *C. albicans* fue aislada de los lactantes, principalmente (14/16) en el sitio rectal. Todos los neonatos colonizados nacieron de madres colonizadas por *C. albicans*. La determinación del genotipo *Candida* reveló que eran cepas idénticas en todos los pares de neonato - madre. Además todos los aislamientos fueron sensibles a anfotericina B <sup>61</sup>. Por otra parte, Siavochi F. y cols., (2013) propusieron que la vaginitis por levaduras podría ser el reservorio de la bacteria causante de gastritis *Helicobacter pylori*, y por ende de su transmisión a los neonatos <sup>62</sup>.

### **6.2.1 Factores de riesgo asociados a la aparición de candidiasis vaginal**

Tanto la colonización como la infección vaginal micótica son más frecuentes en el embarazo y en mujeres con otros factores predisponentes. Las infecciones suelen ser de origen endógeno por modificación del ecosistema microbiano intestinal o vaginal, ya sea después de un tratamiento antibiótico o por disminución de las defensas inmunitarias del huésped como en el caso de corticoterapia, enfermedades inmunosupresoras, diabetes no controlada, obesidad, estrés, uso de anticonceptivos hormonales o terapia de remplazo hormonal.

Otros factores que contribuyen a la infección son el uso de pantalones ajustados, ropa interior de nylon y la utilización de duchas vaginales. Todos aquellos factores que estimulen la adhesividad y la invasividad del agente favorecen el desarrollo de la enfermedad.<sup>63</sup>

#### **6.2.1.1 Factores hormonales:**

La multiplicación de *Candida spp* es favorecida por el aumento en la concentración de carbohidratos en la mucosa vaginal. Este hecho está relacionado con la acción estrogénica que como fenómeno normal, incrementa el contenido de glucógeno durante la primera fase del ciclo menstrual y durante el embarazo. No sólo los estrógenos están relacionados con los niveles de carbohidratos vaginales sino también el déficit de insulina.<sup>64, 65</sup>

Por otro lado, Powell B. y cols., en su estudio sobre el papel del 17 $\beta$ - estradiol (tipo de estrógeno más frecuente) en la candidiasis, demostró que este es capaz de unirse a *C. albicans* y *C. glabrata* favoreciendo así su unión al epitelio<sup>66</sup>. Zakout Y. y cols., (2012) también demostraron mayor frecuencia de candidiasis vaginal en mujeres que utilizaban anticonceptivos orales que en las que no los utilizaban<sup>67</sup>. Otros autores también han demostrado que el uso de anticonceptivos orales afecta la flora normal de la vagina predisponiendo de esta manera a la infección<sup>68, 69</sup>.

Por otra parte, Atabek M. y cols., (2013) encontraron un 39% de candidiasis vaginal en pacientes con Diabetes Mellitus Tipo 1, identificaron principalmente a *C. albicans* (50%), *C. glabrata* (36.6%), *C. krusei* (3.3%), *C. dubliniensis* (3.3%) y otras especies (6.6%)<sup>70</sup>. Además, Nyirjesy P. y Sobel J. (2013) encontraron episodios recurrentes de vaginitis por levaduras en pacientes con

diabetes Mellitus tipo 2 asociados principalmente a *C. glabrata*<sup>71</sup>. También se ha demostrado infección urinaria por levaduras en pacientes diabéticos<sup>72</sup>.

#### **6.2.1.2 Factores físicos:**

El calor y la humedad favorecen la maceración de la piel, propiciando la infección cutánea y a partir de ella, por contigüidad, la invasión del tejido vaginal. Esta situación se presenta especialmente en mujeres que utilizan ropa interior que no permite una adecuada transpiración como son las prendas a base de nailon (pantalones y mediapantalón) así como los blue jeans demasiado ajustados. Además como expresa Ryley J., las laceraciones facilitan la invasión de las levaduras en la mucosa vaginal<sup>64, 65</sup>.

Otro factor físico que puede dañar la mucosa vaginal es la presencia de Dispositivos Intrauterinos (DIU). Baris I. y cols., encontraron un 66.3% de inflamación en la mucosa vaginal en mujeres que utilizaban DIU<sup>73</sup>. También Caliskan S. y cols., y Paiva L. y cols., concluyeron en su estudio que *Candida spp* puede conducir a infecciones vaginales mediante la inducción de la formación de biopelículas en los hilos del DIU y estas biopelículas pueden estar relacionadas con la resistencia a los antifúngicos de las especies de levaduras involucradas<sup>74, 75</sup>.

#### **6.2.1.3 Uso de antibióticos:**

La flora bacteriana vaginal actúa como un factor negativo sobre la capacidad de proliferación de las levaduras pues al encontrarse en mayor cantidad, compite por el sustrato alimenticio; además, las bacterias producen factores inhibidores del crecimiento de *Candida* mediante los cuales se controla su proliferación. Al administrar antibióticos y en general sustancias antibacterianas en forma sistémica o local, se destruye la flora bacteriana permitiendo el crecimiento libre de las levaduras y convirtiéndose en uno de los factores más importantes que propician la candidiasis vaginal. La sola administración de antibacterianos para el control del acné, la administración de óvulos de tetraciclina y cloranfenicol e incluso la administración sistémica de metronidazol y sus derivados puede desencadenar una candidiasis vaginal.<sup>64, 65</sup>

#### **6.2.1.4 Factores inmunológicos y genéticos:**

Están en riesgo de desarrollar una vaginitis por levaduras, aquellos pacientes que tienen el sistema inmunológico deprimido, como es el caso de los pacientes oncológicos y/o con SIDA, o cualquier otra afectación que produzca neutropenia. También los pacientes tratados con glucocorticoides o con agentes inmunosupresores, como es por ejemplo el caso de los pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico.<sup>76</sup>

Por otro lado están los pacientes que presentan susceptibilidades genéticas a este tipo de infecciones, como son los pacientes que presenten inmunodeficiencias primarias en las líneas de defensa contra levaduras. Estas deficiencias son defectos en los mecanismos STAT1, STAT3 o CARD9. Por otro lado están los polimorfismos en los genes del sistema inmunológico que están asociados a candidiasis vaginal recurrente.<sup>76</sup>

#### **6.2.1.5 Factores estimulantes de adhesividad**

*Factores exógenos:* La adhesividad es mayor en medios neutros o ligeramente alcalinos. Mientras más se aproxime el pH vaginal a valores normales (4.0-4.5) más se dificulta la adherencia de la *Candida*. La flora bacteriana ocupa receptores en el epitelio vaginal bloqueando la interacción epitelio-levadura; de ahí que el tratamiento antibacteriano favorezca la adhesividad del hongo.

En términos fisiológicos, la progesterona es capaz de adherirse a la pared de la levadura y en esta forma el hongo puede unirse a los receptores epiteliales de la hormona. Por lo tanto, durante la fase progestacional del ciclo menstrual y durante el embarazo se favorece la adhesividad epitelial del agente infeccioso.<sup>65</sup>

*Factores endógenos:* En la pared de la *Candida* existe una serie de sistemas enzimáticos que facilitan la adhesividad al epitelio; un conjunto de proteasas o enzimas proteolíticas parece jugar un papel fundamental. *In vitro* se ha demostrado una mutante de *C. albicans* avirulenta sin capacidad de adherencia por la carencia del sistema de proteasas.<sup>77</sup>

### **6.3 Mecanismos patogénicos**

La capacidad de las especies de *Candida*, principalmente de *C. albicans*, para infectar diversos sitios, se debe a la amplia gama de factores de virulencia y atributos que posee. Estos incluyen la transición morfológica entre la levadura y las formas de hifas, la expresión de adhesinas e invasinas en la superficie celular, tigmotropismo, la formación de biopelículas, conmutación fenotípica y la secreción de enzimas hidrolíticas. Adicionalmente poseen una adaptación rápida a los cambios de pH, flexibilidad metabólica, un sistema de adquisición de nutrientes poderoso y una respuesta fuerte ante el estrés.<sup>78</sup>

Los mecanismos patogénicos, han sido mejor estudiados en la levadura *C. albicans*, por lo que los siguientes acápites se refieren específicamente a esta.

#### **6.3.1 Polimorfismo:**

*Candida albicans* es un hongo polimórfico que puede crecer ya sea como levadura en forma ovoide, como células con pequeñas elongaciones parecidas a hifas (pseudohifas) o con verdaderas hifas<sup>79</sup>. Otras estructuras incluyen las células blancas y opacas y las clamidosporas que son órganos de resistencia de doble pared<sup>80</sup>. Estas últimas no se han encontrado en muestras de pacientes<sup>81</sup>. Una serie de señales ambientales afectan la morfología de *Candida*, por ejemplo a pH bajo (< 6) crece la forma levaduriforme y a pH alto (> 7) se induce el crecimiento de las hifas. De hecho una serie de condiciones que incluyen la falta de nutrientes, la presencia de suero N-acetilglucosamina, temperatura fisiológica y CO<sub>2</sub> promueven el crecimiento de las hifas<sup>82</sup>.

La transición de la forma levaduriforme a la hifa se le ha denominado dimorfismo, y ambas tienen su importancia en la patogenicidad<sup>83</sup>. La forma de hifa se ha demostrado que es más invasiva que la levadura<sup>79</sup>. También se cree que la forma de levadura, por ser más pequeña, está más involucrada en la diseminación de la enfermedad<sup>84</sup>.

Las levaduras mutantes que son incapaces de producir hifas in vitro, poseen poca virulencia<sup>85</sup>. Sin embargo la producción de hifas está ligada a un conjunto de genes que codifican factores de virulencia, pero que no están involucrados en la formación de las hifas como tal. Tales proteínas

asociadas a las hifas incluyen la proteína de la pared Hwp1, la proteína aglutinina Als3, las proteasas de secreción Sap4, Sap5 y Sap6 y las proteínas asociadas a las hifas ECE1 y Hyr1<sup>86, 87</sup>.

### 6.3.2 Adhesinas e invasión

*C. albicans* tiene un conjunto de proteínas (adhesinas) especializadas que median la adhesión a otras *Candida spp*, superficies abióticas y células del huésped. Las proteínas mejores estudiadas son las aglutininas (aglutinin-like sequence, ALS), que forman una familia de ocho miembros (Als1–7 and Als9). Los genes ALS codifican para la glicoproteínas de superficie ligadas a glicosilfosfatidilinositol (GPI). La adhesina más importante es la Als3, cuya expresión es sobre-regulada in vitro durante la infección de las células de la cavidad oral e in vivo durante la infección de las células de la mucosa vaginal<sup>88-90</sup>. Otra importante adhesina es la Hwp1 que reacciona covalentemente con las transglutaminasas de mamíferos. Hpw1 y Als3 también se ha demostrado que contribuyen a la formación de biopelículas como adhesinas complementarias<sup>91, 92</sup>.

Otras proteínas que no son parte de la morfología pueden también contribuir a la adhesión. Estas incluyen las proteínas ligadas a GPI (Eap1, Iff4 y Ecm33), las proteínas asociadas no covalentemente a la pared (Mp65, un putativo  $\beta$ -glucanasa, y Phr1, a  $\beta$ -1,3 glucanosil transferasa), proteasas asociadas a la superficie celular (Sap9 y Sap10) y la integrina de superficie Int1.<sup>93, 94</sup>

*C. albicans* es un notable patógeno que puede utilizar dos diferentes mecanismos para invadir la célula huésped: endocitosis inducida y penetración activa<sup>93-95</sup>. Para realizar la endocitosis la levadura expresa proteínas especializadas en su superficie (invasinas) que median la unión a receptores del huésped (E-caderina en las células epiteliales<sup>96</sup> y N-caderina en las células endoteliales<sup>97</sup>) iniciando así la inmersión de la levadura en la célula del huésped. Incluso las hifas que están muertas son absorbidas lo que indica que la endocitosis inducida es un proceso pasivo que no requiere las actividades de las células fúngicas viables<sup>95, 98</sup>. Dos invasinas han sido identificadas: Als3 y Ssa1<sup>96, 99</sup>. La proteína Ssa1 es expresada en la superficie celular de la levadura y pertenece a la familia de las proteínas Hsp70 (heat shock protein 70). Als3 and Ssa1 induce endocitosis mediante un mecanismo clatrina dependiente. La macropinocitosis también ha sido implicada en la endocitosis inducida de *C. albicans*.<sup>95, 96</sup>

En contraste, la penetración activa es un proceso impulsado y requiere hifas viables<sup>89,95</sup>. No está claro que factores intervienen en esta segunda vía. Se cree que son cruciales la adhesión fúngica y las fuerzas o mecanismos físicos<sup>89</sup>. Se ha propuesto que las proteasas aspárticas (PAE) participan en la penetración activa. Las lipasas y fosfolipasas, por otro lado, no se han demostrado que contribuyan a este proceso<sup>93,95</sup>.

### 6.3.3 Formación de biopelículas

*C. albicans* tienen la capacidad para formar biopelículas en superficies abióticas y bióticas<sup>100</sup>. La formación de la biopelícula en pasos secuenciales incluye: la adherencia de la levadura al substrato, proliferación, formación de hifas en la superficie de la biopelícula, acumulación de material de la matriz extracelular y, finalmente, dispersión de la levadura desde la biopelícula<sup>101</sup>. Las biopelículas maduras son mucho más resistentes a los antifúngicos y a la respuesta del huésped<sup>100,101</sup>. Esto se debe a la arquitectura de la biopelícula y al incremento de las bombas de flujo y la plasticidad metabólica<sup>100</sup>. La dispersión de las levaduras desde la biopelícula contribuye al aumento de la virulencia<sup>102</sup>. La proteína Hsp90 (heat shock protein) fue recientemente identificada como un regulador de la dispersión de *C. albicans* y requerida para la formación de biopelículas resistentes a los antifúngicos<sup>103</sup>.

Varios factores de transcripción controlan la formación de biopelículas: Bcr1, Tec1, Efg1, Ndt80, Rob1 y Brg1<sup>100</sup>. La producción de la matriz extracelular es controlada por factores adicionales. El factor de transcripción Zap1 regula negativamente la producción de  $\beta$ -1,3 glucano, que es el principal componente de la biopelícula<sup>104</sup>. Las glucoamilasas (Gca1 y Gca2), las glucanotransferasas (Bgl2 y Phr1) y las exoglucanasa Xog1 son reguladores positivos de la producción de  $\beta$ -1,3 glucano<sup>104,105</sup>. Mientras que la expresión de GCA1 y GCA2 son controladas negativamente por Zap1, las enzimas Bgl2, Phr1 y Xog1 funcionan independientemente<sup>105</sup>.

Las biopelículas formadas por mutantes han demostrado ser más susceptible tanto *in vitro* como *in vivo* a fluconazol. Sin embargo han demostrado ser resistentes a los productos derivados de oxígenos de los neutrófilos<sup>105</sup>.

#### **6.3.4 Sensores de contacto y tigmotropismo**

El contacto con una superficie hace que la levadura cambie a hifa. En ciertos substratos como las superficies de las mucosas o agar, las hifas pueden invadir las superficies. El contacto con superficies sólidas induce la formación de biopelículas <sup>106</sup>. En superficies con topologías particulares (presencia de rugosidad), el crecimiento direccional de hifas (tigmotropismo) puede ocurrir <sup>107</sup>.

Brand et al., demostraron que el tigmotropismo de *C. albicans* por la toma del calcio extracelular a través de los canales de calcio Cch1, Mid1 y Fig1 <sup>107</sup>. Brand et al., también dieron evidencia de que el tigmotropismo es requerido para el daño completo de la célula epitelial <sup>108</sup>.

#### **6.3.5 Secreción de hidrolasas**

Siguiendo a la adhesión a una superficie y el crecimiento de hifas se produce la secreción de hidrolasas por parte de estas. Se ha propuesto que facilitan la penetración activa y la adquisición de nutrientes extracelulares <sup>109</sup>. Tres diferentes clases de hidrolasas son expresadas por *C. albicans*: proteasas, fosfolipasas y lipasas.

La familia de las proteasas de origen aspártico (Saps) comprenden 10 miembros (Sap1 – 10). Sap1 – 8 son secretadas al medio que rodea, mientras que Sap9 – 10 permanecen en la superficie de la célula <sup>110-112</sup>. La familia de las fosfolipasas consiste en 4 diferentes clases (A, B, C y D). Solamente los 5 miembros de la clase B (PLB1 – 5) son extracelulares y contribuyen a la patogenicidad vía disrupción de las membranas del huésped <sup>113</sup>. La familia de las lipasas contiene 10 miembros (LIP1 – 10), las cuales también tienen un papel importante en la patogenicidad <sup>114</sup>.

#### **6.3.6 Sensores de pH y regulación**

En el huésped humano *C. albicans* es expuesta a diferentes rangos de pH, desde alcalinos hasta ácidos; incluso en un mismo nicho, los cambios de pH pueden ser muy dinámicos. Por lo tanto, *C. albicans* debe ser capaz de adaptarse a los cambios de pH <sup>115</sup>. Los pH neutrales y alcalinos pueden causar severo estrés a *C. albicans*, esto incluye mal funcionamiento de sus proteínas y dificultad en la adquisición de nutrientes <sup>115</sup>. Las primeras proteínas identificadas como importantes para su adaptación fueron las de la pared celular  $\beta$ -glicosidasas Phr1 y Phr2 <sup>116</sup>. Phr1

es expresada en pH neutral-alcalino. En contraste Phr2 es principalmente expresada en pH ácido <sup>117</sup>. Correspondientemente, Phr1 es requerida para infecciones sistémicas y Phr2 para infecciones vaginales <sup>118</sup>.

*C. albicans* no es capaz de adaptarse al pH del medio ambiente, pero puede modular activamente el pH extracelular, alcalinizando su medio ambiente bajo condiciones de falta de nutrientes y autoinduciendo la formación de hifas <sup>119, 120</sup>. Los mecanismos moleculares implicados en esto apenas comienzan a ser descubiertos y parecen implicar la absorción de aminoácidos y probablemente otras moléculas que contengan amina, tales como poliaminas, en la ausencia de glucosa. *C. albicans* escinde intracelularmente estos sustratos con la urea amidoliasa Dur1, 2, y exporta amoníaco resultante a través de la ATO (transporte de amoníaco hacia fuera). La expulsión de amoníaco conduce a una alcalinización del medio extracelular, que a su vez promueve la formación de hifas <sup>119</sup>. Esto se considera un factor de virulencia. Por lo tanto, *C. albicans*, se adapta y, sorprendentemente, también modula activamente el pH extracelular. Todas estas características contribuyen a su notable capacidad de coexistir como un comensal, y que prevalezca como hongo patógeno en los seres humanos <sup>85</sup>.

### **6.3.7 Adaptación metabólica.**

La nutrición es un requisito indispensable para la supervivencia y el crecimiento de todos los organismos vivos. La capacidad de adaptación metabólica media la asimilación efectiva de nutrientes alternativos en el medioambiente dinámico. Esta flexibilidad metabólica es particularmente importante para los hongos patógenos durante la infección en los diferentes nichos del huésped <sup>121, 122</sup>.

La respuesta a la glicólisis, gluconeogénesis y a la escases de nutrientes se cree que contribuyen a la colonización y patogenicidad en el huésped. En individuos sanos *C. albicans* se encuentra predominantemente como parte de la microbiota gastrointestinal. Aunque la concentración de nutrientes en este entorno puede ser naturalmente alta, el crecimiento del hongo es controlado a través de la competencia con otros miembros de la microbiota intestinal. Durante la candidiasis diseminada en individuos susceptibles, *C. albicans* accede al torrente sanguíneo. La sangre es relativamente rica en glucosa (6-8 mM), el nutriente preferido de la mayoría de los hongos <sup>121</sup>.

Sin embargo, los fagocitos (macrófagos y neutrófilos) pueden fagocitar eficazmente a *C. albicans*<sup>123</sup>. Una vez dentro de un macrófago o neutrófilo, el ambiente nutricional cambia por completo para el hongo. Los fagocitos producen intermedios altamente reactivos de oxígeno (ROS), especies reactivas de nitrógeno (RNS) y péptidos antimicrobianos (AMP), que restringen la disponibilidad de nutrientes, lo que crea un ambiente de falta de nutrientes<sup>123</sup>. Por lo tanto, la plasticidad metabólica es necesaria para la adaptación de *C. albicans* en un medio tan hostil. Dentro de los macrófagos, el hongo cambia inicialmente de la glucólisis a la gluconeogénesis y a una respuesta al hambre (activación del ciclo del glioxilato). Los lípidos y aminoácidos comienzan a servir como fuentes de nutrientes dentro de los macrófagos<sup>124</sup>.

En adición a la flexibilidad metabólica, el hongo tiene también maneras de escapar de los macrófagos mediante la inhibición de la producción de efectores antimicrobianos y la formación de hifas. Estas pueden atravesar y romper las células fagocíticas por fuerzas mecánicas y permitir el escape<sup>124, 125</sup>. Durante la candidiasis sistémica, las células fúngicas pueden difundirse prácticamente a todos los órganos en el huésped humano, con un potencial disponible de nutrientes<sup>122</sup>. En el hígado por ejemplo, *C. albicans* tiene acceso a grandes cantidades de glucógeno, la molécula principal de almacenamiento de la glucosa. El cerebro tiene altas concentraciones de glucosa y vitaminas como nutrientes. En otros tejidos, *C. albicans* se enfrenta a concentraciones relativamente pobres de glucosa y utiliza las vías metabólicas alternativas del huésped para utilizar proteínas, aminoácidos, lípidos y fosfolípidos. El hongo puede utilizar sus proteasas secretadas para hidrolizar las proteínas del huésped<sup>126</sup>.

Fue demostrado recientemente, en un modelo murino de candidiasis vaginal y sistémica, que la adaptación a diferentes fuentes de nutrientes por *C. albicans*, no sólo promueve la supervivencia y el crecimiento, sino que también afecta la virulencia. El crecimiento con fuentes de carbono alternativas, tales como ácidos lactato o amino, hace al hongo más resistente a estrés ambiental y aumenta su potencial de virulencia<sup>120, 126</sup>.

### **6.3.8 Respuesta al estrés ambiental.**

Una respuesta fuerte al estrés contribuye a la supervivencia y la virulencia de *C. albicans*, facilitando la adaptación del hongo a las condiciones cambiantes y protegerse contra las tensiones

derivadas del huésped. Las células fagocíticas del sistema inmunológico producen estrés oxidativo y nitrosativo. El estrés a causa del pH se produce, por ejemplo, en el tracto gastrointestinal y urogenital. Las vías de regulación de respuesta al estrés, son esenciales no sólo para una eficiente adaptación al estrés, sino también para la virulencia completa del hongo. De hecho, varios mutantes que carecen de los genes que codifican reguladores de estrés y enzimas desintoxicantes muestran una virulencia atenuada <sup>127</sup>.

Las respuestas celulares al estrés incluyen choque térmico, osmótico, estrés oxidativo y nitrosativo. La respuesta al estrés está mediada por proteínas de choque térmico que actúan como chaperonas moleculares para prevenir el daño, desdoblamiento y agregación de proteínas. Además, el estrés térmico conduce a la acumulación de trehalosa en *C. albicans*, la cual actúa como una "chaperona química" mediante la estabilización de proteínas propensas al desdoblamiento <sup>127</sup>. Sin embargo, la función exacta de la acumulación de trehalosa tras el estrés térmico, sigue siendo desconocida.

La respuesta al estrés osmótico es la acumulación intracelular de glicerol para contrarrestar la pérdida de agua debido al gradiente químico dirigido hacia el exterior. La biosíntesis de glicerol está mediada por la glicerol 3-fosfatasa Gpp1 y la glicerol 3-fosfato deshidrogenasa Gpd2. Los mutantes que carecen de estas enzimas demostraron haber reducido la capacidad de daño en las células epiteliales orales in vitro. Sin embargo, esto se debe probablemente a una incapacidad para generar presión de las hifas y fuerzas mecánicas, que al aumento de la sensibilidad al estrés osmótico <sup>89</sup>.

Las especies reactivas de oxígeno (ROS), tales como peróxido, aniones superóxido y los radicales hidroxilos, inducen un estrés oxidativo <sup>127</sup>. La superóxido dismutasa y catalasa Cta1, Sod1 y Sod5, son cruciales para la eficiente desintoxicación de ROS en *C. albicans*, y son necesarios para la plena virulencia en modelos de ratón para la forma sistémica de la enfermedad <sup>128-130</sup>.

Los neutrófilos también producen especies reactivas de nitrógeno (RNS), que inducen una respuesta de estrés nitrosativo en levaduras de *C. albicans* fagocitadas. La principal proteína implicada en la desintoxicación de RNS es la proteína relacionada flavohemoglobina Yhb1. La

supresión de Yhb1 hace que *C. albicans* sea sensible a RNS y atenúa su virulencia en un modelo de ratón con candidiasis sistémica <sup>131</sup>.

En los hongos, las señales ambientales como la del estrés, son detectadas y transmitidas por la proteína activadora de mitógenos (MAP) vía quinasa, través de eventos secuenciales de fosforilación. Los tres principales vías MAP quinasa de señalización en *C. albicans* son: el Mkc1-, Hog1 y Cek1-MAP quinasa. La vía Mkc1 está principalmente involucrada en el mantenimiento de la integridad celular, biogénesis de la pared celular, crecimiento invasivo en la formación de biopelícula. Mkc1 se activa en condiciones de estrés oxidativo y osmótico. La vía de Hog1 (respuesta de glicerol de alta osmolaridad) media la respuesta al estrés osmótico, oxidativo y térmico, morfogénesis y formación de la pared celular. Bajo estrés osmótico, se activa Hog1 que conduce a la acumulación de glicerol <sup>132</sup>.

La vía Cek1 (Candida ERK-quinasa) media la filamentación, apareamiento y probablemente también la adaptación al estrés térmico <sup>132, 133</sup>. Las levaduras mutantes que carecen de una de las tres vías presentan virulencia atenuada, destacando la importancia de la respuesta al estrés durante la infección <sup>134-136</sup>.

Además, las señales ambientales también provocan interferencias en la secuencia de activación de la cascada entre las tres vías MAP quinasa vías. Por ejemplo, si se activa Hog1 se reprime la Cek1 y se activa la vía Mkc1 <sup>132</sup>.

### **6.3.9 Proteínas de choque térmico.**

La respuesta de choque térmico es una reacción conservada de los organismos vivos a condiciones de estrés, tales como alta temperatura, el hambre y el estrés oxidativo <sup>137, 138</sup>. Tales tensiones pueden inducir desdoblamiento y la agregación de proteínas no específicas, y conducir en última instancia a la muerte celular. Con el fin de evitar esto, las levaduras producen proteínas de choque térmico (Hsps) <sup>137</sup>. Estas proteínas especializadas actúan como chaperones para prevenir el desarrollo y agregación de proteínas mediante la unión y estabilización a su hospedero <sup>139</sup>.

Seis principales Hsp se han identificado en *C. albicans*: Hsp104, Hsp90, Hsp78, dos proteínas Hsp70 (Ssa1 y Ssa2) y Hsp60. Hsp104 codifica una Hsp requerida para la formación adecuada de biopelículas<sup>140</sup>. Hsp90 es una Hsp que regula la resistencia a los medicamentos, la morfogénesis, la formación de biopelículas y la virulencia<sup>103, 141-144</sup>. Hsp78 codifica una Hsp no caracterizada que es transcripcionalmente sobre-regulada en respuesta a la fagocitosis por los macrófagos<sup>124</sup>.

Los dos miembros de la familia Hsp70, Ssa1 y Ssa2 (stress-70 subfamilia A), se expresan en la superficie celular y funcionan como receptores para péptidos antimicrobianos, por ejemplo, Ssa2 se une a histatina<sup>145-147</sup>. Ssa1 también actúa como una invasina<sup>99</sup>. La expresión de Hsp es controlada principalmente por el factor de transcripción de choque térmico factor 1 (Hsf1)<sup>148, 149</sup>. Hsf1 es fosforilada en respuesta al estrés por calor e induce la transcripción de genes que codifican Hsp a través de la unión a los elementos de choque térmico (HSE)<sup>148</sup>.

#### **6.3.10 Proteínas pequeñas de choque térmico.**

Además de las proteínas de choque térmico, seis pequeñas Hsps (sHsp) también han sido identificadas en *C. albicans*<sup>150</sup>. Son chaperonas de baja masa molecular que impiden la agregación de proteínas<sup>151, 152</sup>. Al calor u otras formas de estrés, las levaduras expresan sHsps que inducen la transición de una oligomérica a un estado multimérico y se unen a proteínas agregadas<sup>153</sup>.

*C. albicans* se cree que codifica para seis sHsps: Hsp31, Hsp30, Hsp21, dos proteínas HSP12 y Hsp10<sup>150</sup>. Hasta ahora sólo Hsp12 y Hsp21 se han investigado. Hsp12 se expresa en respuesta a diferentes presiones, como golpe de calor y el estrés oxidativo<sup>154</sup>. Hsp21 es crucial para la regulación de los niveles intracelulares de trehalosa. La supresión de Hsp21 dio lugar a deterioro de la termotolerancia, aumento de la sensibilidad hacia el estrés oxidativo, y virulencia fuertemente atenuada en un modelo de ratón de candidiasis sistémica. Es importante destacar que, Hsp21 no se encuentra en los seres humanos. Estos resultados indican que las sHsps pueden actuar como factores de virulencia y podrían representar objetivos farmacológicos atractivos<sup>133</sup>.

### 6.3.11 Adquisición de metal

Los metales son esenciales para el crecimiento y la supervivencia de todos los organismos vivos, incluyendo los seres humanos, animales, plantas, bacterias y hongos. Entre los metales más importantes son hierro, zinc, manganeso y cobre, todos los cuales son esenciales para la función adecuada de un gran número de proteínas y enzimas. Los microorganismos patógenos, así como sus respectivos huéspedes, han desarrollado mecanismos complejos para adquirir o restringir el acceso a estos metales <sup>155</sup>.

Hasta la fecha, el metal de transición más ampliamente investigado con respecto a la patogénesis es el hierro. *C. albicans* adquiere este metal por distintas estrategias, incluyendo un sistema de reductor, un sideróforo y un sistema de captación y la absorción de hierro <sup>156</sup>. El sistema reductor media la adquisición de hierro de la ferritina del huésped, transferrina o el medio ambiente. La adhesina e invasina Als3 ha demostrado ser el receptor para ferritina <sup>86</sup>.

Aunque *C. albicans* no sintetiza su propio sideróforo, el hongo utiliza un sistema de captación mediante robar el hierro, sideróforos producidos por otros microorganismos, también conocidos como xeno-sideróforos. El único transportador sideróforo que se describe en *C. albicans* es SIT1. Por último, el sistema de absorción de hierro hemo de queratinocitos humanos in vivo mueve la adquisición de hierro de la hemoglobina y hemoproteínas y está mediado por los genes hemo-receptores de la familia de RBT5, RBT51, CSA1, CSA2 y PGA7 (RBT6). El papel de estos receptores en la virulencia no ha sido investigado todavía <sup>156-158</sup>.

El zinc es el segundo metal más abundante en la mayoría de los organismos vivos <sup>155</sup>. Se ha descubierto recientemente un nuevo mecanismo de adquisición de zinc por *C. albicans* <sup>159</sup>. El hongo segrega la proteína de unión al zinc Pra1 (pH regulado antígeno 1), que, análoga a la adquisición de hierro mediada por sideróforo, actúa como un zincóforo para unión de zinc extracelular y reasociándolo con la célula fúngica. La re-asociación de Pra1 está mediada por el transportador de zinc Zrt1 <sup>159</sup>.

Cobre y manganeso también son esenciales para el crecimiento de hongos; sin embargo, los mecanismos por los que *C. albicans* adquiere estos metales es actualmente poco conocido. Un

transportador de manganeso, Ccc1<sup>150</sup>, y un transportador de cobre Ctr1<sup>160</sup>, han sido identificados, aunque sus funciones en la virulencia aún no se han determinado.

#### **6.4 Características clínicas**

La vulvovaginitis es una inflamación de la mucosa vulvar y vaginal, que se observa principalmente con enrojecimiento e irritación. La vulvovaginitis candidiásica se presenta cuando la inflamación de la mucosa vulvar y vaginal es causada por hongos levaduriformes pertenecientes al género *Candida*<sup>1</sup>.

La vulvovaginitis candidiásica se presenta habitualmente con prurito, inflamación y exudación blanca cremosa. En muchas mujeres con candidiasis vaginal no hay evidencia de enfermedad. Es más frecuente en mujeres embarazadas, y en no gestantes, es más prevalente en el período premenstrual, pero es frecuente que siga un curso fluctuante no claramente relacionado con la menstruación. Aunque se observa con más frecuencia en mujeres sexualmente activas, no es raro encontrarla en niñas sin actividad sexual o en mujeres mayores. Típicamente aparece eritema que afecta a la vagina y la piel de la vulva, con leucorrea, pero a veces ésta falta y sólo hay eritema. La erupción puede extenderse hasta el periné y las ingles. El área perianal se afecta con frecuencia. En casos extensos pueden observarse pústulas subcórneas en la periferia. Durante el embarazo, el cuadro se modifica por aumento de la leucorrea fisiológica<sup>161</sup>.

La vulvovaginitis candidiásica puede recidivar y aparecer como una enfermedad crónica. En estos casos, la mucosa vaginal aparece atrófica y brillante, con gran inflamación vaginal, irritación y dispareunia. El prurito es intenso, a veces violento, y aumenta tras la micción o la ducha. La leucorrea es moderada, espesa, como leche cuajada, y con formaciones grumosas. El tratamiento de casos crónicos y recidivantes es difícil, y da origen a estrés. Se deben repetir los cultivos para *Candida* en períodos sintomáticos, para establecer los signos asociados con las recidivas<sup>24, 162</sup>. Aunque la vulvovaginitis candidiásica ocurre con más frecuencia en pacientes con sida, y en algunos casos son resistentes a la terapia, lo habitual es que se presente como un episodio agudo y fácilmente tratable<sup>11</sup>.

En el diagnóstico diferencial deben considerarse la vaginitis por tricomonas, aunque produce una exudación amarillenta, y la vaginosis bacteriana. Diversas dermatosis que afectan a la vulva, como la psoriasis, la dermatitis alérgica de contacto y el liquen escleroatrófico pueden imitar este proceso <sup>11</sup>.

Las principales características clínicas de las infecciones por levaduras <sup>161</sup> son:

- Irritación de la vagina y de los tejidos circundantes (vulva); ardor o comezón.
- Dolor al orinar.
- Líquido que drena de la vagina (flujo). El líquido varía, pero suele ser blanco y de apariencia “de queso”.
- Dolor durante el coito. Las infecciones por levaduras no suelen transmitirse al compañero durante el sexo.

## **6.5 Inmunología de la infección vaginal por levaduras**

La pared celular de los hongos contiene glucano, un esqueleto de quitina y una matriz de proteínas glicosiladas. En *C. albicans* las principales proteínas de la pared celular son glicosilfosfatidilinositol (GPI) ancladas a las proteínas de la pared celular (GPI-CWP) con una afinidad particular por las partes  $\beta$ -(1,3)-glucano y quitina del esqueleto. Las CWPs son proteínas glicosiladas con polisacáridos que contienen manosa (Manano), que representan una estructura crucial para la unión a los receptores de reconocimiento de patrones (RRP) presentes en las células de la respuesta inmune innata contra *C. albicans* <sup>163</sup>.

Hasta la fecha, tres grandes grupos de familias de receptores específicos RRP han sido distinguidos: los receptores tipo toll (TLRs), receptores de lectina de tipo C (CLR) y los que pertenecen a la familia de las proteínas que se unen a nucleótidos (NLR) <sup>163</sup>.

La siguiente tabla muestra los principales receptores (PRRs) que se encuentran en las principales células del sistema inmune y los diferentes patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) de *C. albicans* <sup>163, 164</sup>.

**Tabla 2. Receptores de patrones de reconocimiento (PRRs) de las principales células del sistema inmune involucradas en el reconocimiento de los PAMP de *Candida albicans*.**

PRRs	Candida PAMP	Células implicadas en el reconocimiento de <i>C. albicans</i>				
		Monocito	Macrófago	Neutrófilo	Célula dendrítica	LyT CD4+
<i>Receptores tipo Toll</i>						
TLR2	Fosfolipomanano	x	x	x	x	x
TLR4	Mannano	x	x	x	x	x
	O-ligados a residuos de manosil					
TLR9	CpG-oligodeoxinucleotidos		x	x	x	
<i>Receptores de lectina tipo C</i>						
Receptores de manosa (MR)	Manano					
	Residuos de manosil ligados a N		x		x	
Dectina-1	$\beta$ -1,3 Glucano		x	x	x	
Dectina-2	Altas estructuras de manosa (Man9GlcNAc2)		x	x	x	
DC-SIGN	Altas estructuras de manosa		x		x	
Mincle	Desconocido					
Galectina-3	$\beta$ -1,2-manósidos		x			
SCARF1/CD36	$\beta$ -1,3 Glucano					
<i>NLRs</i>						
NLRP3	Desconocido					

Fuente: Referencia <sup>164</sup>

Cuando un PRR reconoce su correspondiente ligando, las moléculas adaptadoras participan con el receptor. Diferentes tipos PRRs utilizan diferentes tipos de moléculas adaptadoras, la cual traduce una señal por la activación de una cascada quinasa, con el fin de inducir la transcripción de citoquinas proinflamatorias. La dectina-1 señala a través de Syk <sup>165</sup> y el reclutamiento del dominio 9 de la caspasa (CARD9) <sup>166</sup>. La dectina-1 puede inducir la producción de citoquinas independientemente de otros receptores, así como producir sinergia con TLRs para una estimulación óptima de la célula. Cuando son ligandos reconocido por los TLR, las señales son transducidas intracelularmente a través de proteínas adaptadoras como el factor de diferenciación mieloide (MYD). Posteriormente, una proteína quinasa activada por mitógenos (MAPK) activa la

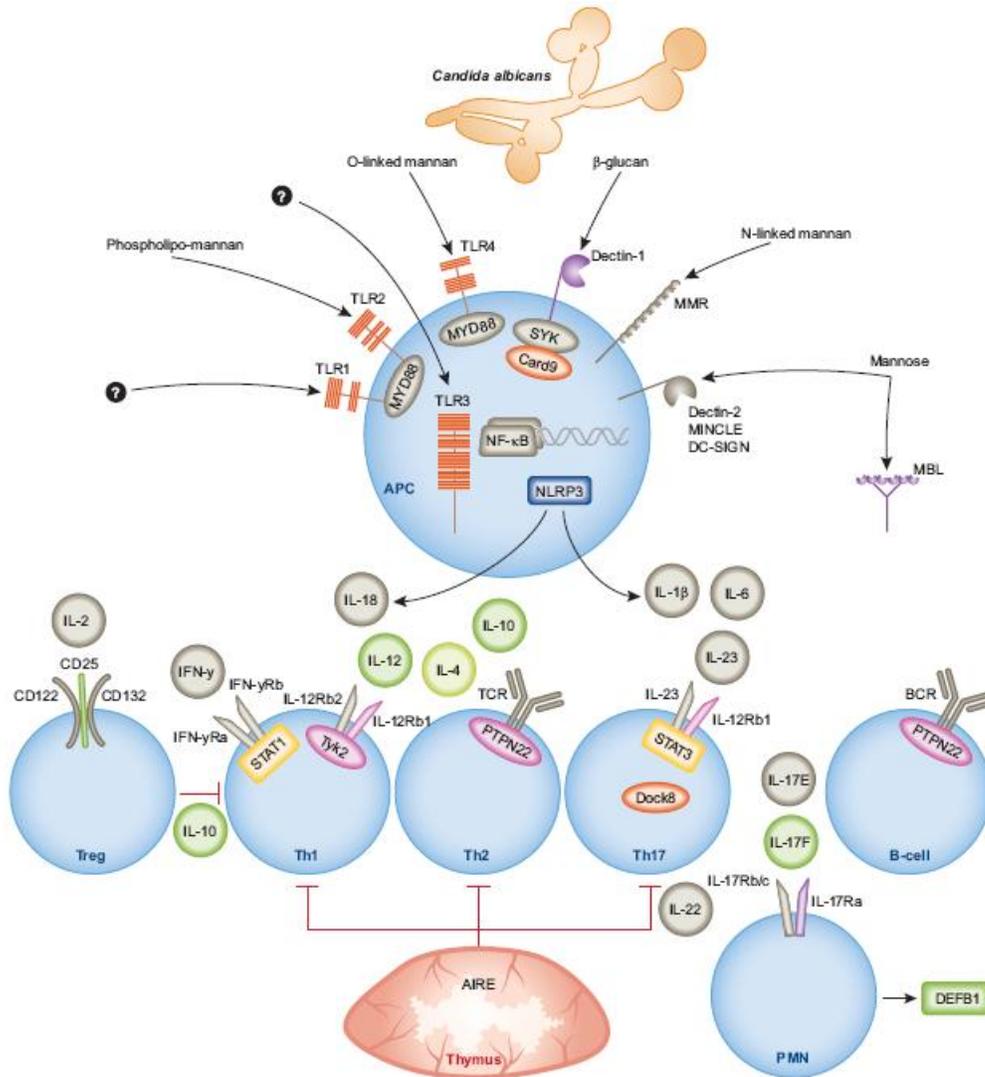
respuesta que conduce a la translocación nuclear de factores de transcripción como el NF- $\kappa$ B y c-Jun, induciendo la transcripción de citocinas y quimiocinas <sup>167</sup>.

Curiosamente, en función de la carga de hongos y la cantidad de hifas en formación, una segunda fase de MAPK, que consiste en MKP1 y la activación de c-Fos, puede ser iniciada y promover una mayor respuesta proinflamatoria <sup>168</sup>.

El reconocimiento de *C. albicans* por las células de la respuesta inmune innata dará lugar a la fagocitosis y la muerte del agente patógeno invasor <sup>169</sup>. Al mismo tiempo, la producción de citoquinas se induce por la misma respuesta inflamatoria, y por otra parte, por la respuesta inmune adaptativa. La activación de la caspasa-1, componente del inflamasoma, mediada por la activación intracelular del receptor NLRP3 (NOD-like), es un acontecimiento central que conduce a la transformación de pro-IL-1 $\beta$  y pro-IL-18 en sus respectivas citoquinas bioactivas, que dirigen la inducción de Th17 y las respuestas Th1, respectivamente <sup>170, 171</sup>.

La producción de IFN- $\gamma$  por las células Th1 y la IL-17 por las células Th17 son características importantes de la respuesta inmune inducida por *Candida* <sup>163</sup>. El Inflamasoma y la activación de Th17 se considera un evento central para la discriminación de la colonización frente a la invasión con *C. albicans* a nivel de la mucosa <sup>172</sup>.

La siguiente figura muestra esquemáticamente la respuesta inmune contra *Candida albicans* <sup>76</sup>.



**Fig 2: Esquema general de la respuesta inmune anti-*Candida albicans*.** Cuando *Candida* es reconocida por los receptores tipo Toll (TLR) y lectina tipo C, la producción de citocinas se inicia a través de la activación de factores de transcripción, como NF- $\kappa$ B. IL-1 $\beta$  e IL-18, necesitan ser primero NLRP3 antes de que puedan ser secretadas. IL-2 está implicada en la diferenciación de todas las células T efectoras. El receptor de IL-2 es altamente expresado en las células T reguladoras (Treg). IL-12 e IL-18 promueven la diferenciación de las células T helper 1 (Th1) que secretan IFN- $\gamma$ . IL-4 e IL-10 promueven la diferenciación de Th2, mientras que la IL-10 también puede suprimir las células Th1. IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-23 impulsan el desarrollo de las células Th17. DOCK8 está involucrado en el mantenimiento de las células Th17. IL-17 promueve el reclutamiento de neutrófilos, que tienen efectos protectores del tejido por la producción de beta-defensinas. Las citoquinas son reconocidas por los receptores de citoquinas, que utilizan varias moléculas adaptadoras como STAT1, STAT3 y TYK2. PTPN22 está involucrado en la señalización de receptores de células T y B. Los componentes con las mutaciones y/o variaciones genéticas están asociados con la infección por *Candida* y se muestran en color. APC: célula presentadora de antígeno, BCR: Receptor de célula B, CARD9: reclutamiento de dominio 9 de caspasas, DC-SIGN: señales de células dendrítica (ICAM), MBL: lectina de unión a manosa, MMR: receptor de manosa de macrófagos, NLRP3: NACHT, LRR y PYD dominios que contienen la proteína 3, TCR: receptor de células T, TLR: Toll-like receptor.

## **6.6 Identificación de las levaduras causantes de infección vaginal**

La identificación de la especie de toda 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 <sup>3</sup>.

La identificación de las levaduras se puede llevar a cabo atendiendo a cuatro criterios diferentes: morfológicos, bioquímicos, inmunológicos o genéticos <sup>9</sup>.

### **6.6.1 Identificación mediante criterios morfológicos**

Los criterios morfológicos pueden ser, a su vez, macro o microscópicos <sup>9</sup>.

#### **6.6.1.1 Criterios macroscópicos**

Estos criterios tienen en cuenta el aspecto de las colonias de levaduras al crecer en los diferentes medios de cultivo. La mayoría de los organismos levaduriformes crecen fácilmente en un gran número de medios de cultivo usados rutinariamente en el laboratorio de Microbiología (agar sangre, agar chocolate, agar Cled, etc.). Sin embargo, el agar glucosado de Sabouraud (SDA), con o sin antibióticos añadidos, es el medio de aislamiento por excelencia para la identificación de levaduras <sup>173</sup>.

En el medio SDA las colonias de levaduras suelen ser completas, ligeramente abombadas o planas, de consistencias mantecosas, lisas o rugosas, con olor dulzón agradable, volviéndose más pastosas a medida que envejecen. Por lo general las colonias de levaduras no desarrollan micelio aéreo, aunque en ocasiones pueden aparecer prolongaciones aracneiformes en la periferia de las colonias. Si se observa un micelio aéreo definido, debe considerarse la posibilidad de que se trate de un hongo dimórfico o de ciertas especies de levaduras que pueden formar micelio verdadero como *Geotrichum*, *Galactomyces*, *Trichosporon* o *Blastoschizomyces* (su teleomorfo *Dipodascus*). Una colonia de aspecto y consistencia mucoide sugiere la formación de cápsulas y

puede ser el paso inicial para la identificación de *Cryptococcus neoformans*. Las colonias de color rojo-anaranjado o naranja, de aspecto cremoso o rugoso, son características de las especies del género *Rhodotorula* (del gr. *rhodo*, rojo) y *Sporobolomyces* (anaranjado), color que manifiestan estas levaduras por su riqueza en carotenoides. Las colonias de *Candida* son blancas y cremosas, y dependiendo de la especie varían en tamaño <sup>173</sup>.

#### 6.6.1.2 Criterios microscópicos

Ciertas características microscópicas son muy útiles para la identificación de algunas especies de levaduras. Las más utilizadas en la práctica son las siguientes:

##### *6.6.1.2.1 Prueba del tubo germinal o filamentación precoz*

El tubo germinal es una extensión filamentososa de la levadura, sin estrechamiento en su origen, cuyo ancho suele ser la mitad de la célula progenitora y su longitud tres o cuatro veces mayor que la célula madre <sup>9</sup>.

Sólo *C. albicans* es capaz de producir verdaderos tubos germinales; sin embargo, otras especies como *C. tropicalis* pueden producir pseudohifas precoces de aspecto similar a los tubos germinales pero con una zona de constricción característica adyacente a la célula madre, por lo que esta prueba es útil para diferenciar *C. albicans* del resto de las especies de *Candida*, aunque no está exenta de falsos negativos <sup>174</sup>.

La filamentación en suero es una prueba simple, eficiente y económica, útil para el laboratorio en la identificación de *C. albicans* <sup>174-176</sup>. Sin embargo, alrededor del 5% de los aislamientos de *C. albicans* producen falsos negativos y algunos aislamientos no *C. albicans* falsos positivos <sup>177</sup>. La habilidad de *C. albicans* de producir tubo germinativo se ve afectada por las condiciones ácidas del medio, contaminación bacteriana, temperatura e inoculación <sup>178, 179</sup>. Un técnico con poca experiencia podría confundir la germinación de artroconidia producida por *Geotrichum* y *Trichosporon spp.* con la producción del tubo germinativo de *C. albicans* o identificar erróneamente las blastosporas elongadas, todavía agarradas a las células de las levaduras, como tubos germinativos positivos <sup>179, 180</sup>.

## Falsos Negativos <sup>9</sup>

- Aproximadamente un 5% de cepas de *C. albicans* son negativas para tubos germinales.
- Si se utiliza un inóculo demasiado abundante de levaduras, también pueden obtenerse falsos resultados negativos.

Además de la prueba en suero, se pueden realizar variantes de esta como realizarlo con plasma de conejo o Medio de cultivo sólido Oxgall-Tween-ácido cafeico (TOC) <sup>9</sup>.

### 6.6.1.2.2 Formación de hifas, blastoconidias, clamidosporas y artrosporas

La formación de hifas, blastoconidias, clamidosporas o artrosporas por parte de las levaduras constituye una característica morfológica de gran importancia para la identificación de algunas especies de levaduras. Ante la presencia de estructuras con aspecto de hifas, lo primero que hay que determinar es si se trata de pseudohifas (resultantes del proceso de formación de blastoconidias y, por tanto, con puntos regulares de estrechamiento) o, por el contrario, son verdaderas hifas que se fragmentan en artroconidias. Si el desarrollo en medios especiales revela la presencia de pseudohifas y blastoconidias, la levadura a identificar pertenece a alguna especie del género *Candida*. Si por el contrario, revela verdaderas hifas y artroconidias, lo más probable es que se trate de especies de *Trichosporon*, *Geotrichum*, *Galactomyces* o *Blastoschizomyces* <sup>9</sup>.

*Trichosporon* y *Blastoschizomyces* producen tanto artroconidias como blastoconidias; estas últimas nacen en brotes de los ángulos de las artroconidias adquiriendo la forma característica de “oreja de conejo”. Las especies *Galactomyces geotrichum* (*Geotrichum candidum*) y *Blastoschizomyces capitatus* (*Geotrichum capitatus*) también producen blastoconidias a partir del ángulo de la artroconidia, pero, en este caso, forman una estructura denominada “palo de hockey”. *C. tropicalis* produce pequeñas cantidades de blastoconidias, muy esparcidas o en pequeños grupos a lo largo de las hifas <sup>9</sup>. Sin embargo, *C. parapsilosis*, *C. kefyr* y *C. krusei* se ordenan a lo largo de una corriente de blastoconidias, siendo esta la característica que permite su identificación; además, algunas cepas pueden producir hifas gigantes <sup>9</sup>.

Las clamidosporas son formas de resistencia, redondas u ovales, de 6-12 µm de diámetro y pared gruesa, con aspecto de esporas laterales o terminales. Su producción es característica y

diagnóstica de *C. albicans*. También puede hacerse una identificación presuntiva de esta especie si se observa la formación de grupos compactos de blastoconidias, a intervalos regulares, a lo largo de la pseudohifa <sup>9</sup>.

#### 6.6.1.2.3 Tinciones

El estudio microscópico de los organismos levaduriformes se puede llevar a cabo mediante tinciones, ya sea tinción simple o tinción de Gram; con esta tinción, las levaduras suelen comportarse como Gram positivas. Mediante estas tinciones también se puede observar la formación de blastosporas, artrosporas, hifas, pseudohifas o endosporas <sup>9</sup>.

### 6.6.2 Identificación mediante criterios bioquímicos

#### 6.6.2.1 Criterios bioquímicos enzimáticos

##### 6.6.2.1.1 Medios cromogénicos

Estos medios están diseñados para el aislamiento e identificación de algunas especies del género *Candida* tras su incubación a 30-37 °C durante 24 a 48 h. El fundamento de los mismos se basa en la detección de determinadas actividades enzimáticas por parte de las levaduras mediante la hidrólisis específica de un sustrato cromogénico en presencia de un indicador de la enzima. Una de las principales ventajas de estos medios es diferenciar fácilmente los cultivos mixtos. Estos medios pueden ser utilizados como medios de aislamientos primarios o con fines de identificación, después del aislamiento de los organismos levaduriformes en los medios convencionales. Sólo deben utilizarse como medio de aislamiento primario en aquellas muestras con alta sospecha de micosis por levaduras <sup>9</sup>.

#### CHROMagar Candida®

El medio CHROMagar Candida (CHROMagar) fue descrito por Odds y Bernaerts<sup>181</sup> en 1994 para identificar las especies clínicamente importantes del género *Candida*. CHROMagar Candida permite diferenciar *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, y *C. glabrata* en función de los colores que desarrollan en este medio. La siembra se realiza según las técnicas tradicionales y las placas se incuban a 30-37 °C durante 48 h para que las levaduras desarrollen completamente el color<sup>182</sup>. Al cabo de este tiempo, las colonias de *C. albicans* son lisas y de color verde esmeralda, a

diferencia de *C. dubliniensis* que desarrolla un color verde oscuro y que, además, es incapaz de crecer a 42 - 45 °C. *C. tropicalis* produce colonias azul oscuro con un halo púrpura-marrón en el agar que la rodea. *C. krusei* forma colonias rugosas con el centro rosado y el borde blanco. *C. glabrata* manifiesta un color violeta morado <sup>183</sup>. Las demás especies desarrollan colores y tonalidades diversas que no permiten su identificación por este medio <sup>184, 185</sup>.

#### COLOREX Candida®

Colorex Candida® (Biomedics) es un nuevo medio cromogénico y diferencial que facilita la identificación presuntiva de algunas de las levaduras de mayor importancia en clínica (*C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei*). La siembra se realiza según las técnicas habituales y las placas se incuban a 30-37°C, según el origen de la muestra, durante 24-48 h. En este medio, *C. albicans* desarrolla colonias verdes, *C. tropicalis* azules-grisáceas y *C. krusei* colonias rosas rizadas <sup>9</sup>.

#### Cromogen Albicans®

Cromogen Albicans (Biomedics) es un medio diferencial y selectivo utilizado para el aislamiento e identificación de *C. albicans* en muestras vaginales, rectales, escamas, orina, pus, escobillonados bucales, etc. La siembra se realiza según las técnicas habituales y las placas se incuban a 30-37 °C, según el origen de las muestras, durante 24-48 h. <sup>9</sup>

Las colonias de *C. albicans* adquieren un color azul verdoso característico, dependiendo del período de incubación y la temperatura, con formas redondeadas, lisas y ligeramente elevadas. Las otras especies de levaduras aparecen de color blanco cremoso y necesitan una identificación bioquímica posterior <sup>9</sup>.

#### Candida ID®

El medio Candida ID (bioMérieux) es un medio cromogénico que permite el aislamiento de organismos levaduriformes, la identificación presuntiva de *C. albicans* y cierta orientación para la identificación de otras especies no *albicans* <sup>9</sup>. La inoculación e incubación son similares a las descritas para otros medios cromogénicos <sup>9</sup>.

En Candida ID, las colonias de *C. albicans* son redondeadas, ligeramente convexas, lisas, de bordes netos y de color azul (cuya intensidad varía en función del tiempo de incubación). Las colonias de *C. tropicalis*, *C. lusitaniae*, *C. guilliermondii* y *C. kefyr* desarrollan un color rosa a las 48 h de incubación. Otras especies, como *C. famata*, *C. humicola*, y *Cryptococcus neoformans*, pueden originar colonias rosas más o menos intensas. El resto de las especies desarrolla un color blanco-crema, requiriendo una identificación bioquímica posterior <sup>9</sup>.

#### Albicans ID2®

*Albicans ID2®* (BioMérieux®, Marcy l'Etoile, Francia) es un medio selectivo de aislamiento que soporta el crecimiento de todas las especies de levadura, incluidas las del *Cryptococcus neoformans*, *Sacharomyces cerevisiae*, etc. Contiene un sustrato cromogénico (5-bromo-4-cloro-3-indolil-N-acetil-β-D-glucosaminida) que es específico para una hexosamidasa que permite la identificación rápida y específica de las colonias de *C. albicans* sobre la base de su color azul <sup>186</sup>. Durante la incubación, la hidrólisis del sustrato provoca la generación de un producto azul visible a simple vista. El producto no se difunde significativamente en el soporte del agar y, en consecuencia, pueden distinguirse colonias individuales de *C. albicans* (colonias azules), incluso en aislados que contienen más de una levadura. La inclusión de gentamicina (0,1g/l) y cloranfenicol (0,05 g) inhibe el crecimiento de la mayoría de contaminantes bacterianos <sup>187</sup>.

#### Candida ID2® (CAN2)

El medio Candida ID 2 (bioMérieux) es un medio cromogénico destinado al aislamiento selectivo de levaduras, identificación de la especie *C. albicans* y diferenciación presuntiva de un conjunto de especies como *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* y *C. kefyr*. Este medio se ha presentado como una modificación de la fórmula anterior (medio CandidaID-CA). La inoculación e incubación se llevará a cabo igual que en los casos anteriores, tras 24-48 h. a 30-37°C, se observará el color de las colonias. Azul pálido a azul oscuro es propio de *C. albicans*; rosa es característico de *C. tropicalis*, *C. lusitaniae* y *C. kefyr*, la identificación de estas especies debe continuarse por pruebas bioquímica y/o inmunológicas. Las colonias de color blanco crema no pueden identificarse de forma presuntiva por lo que deben utilizarse técnicas bioquímicas y/o inmunológicas <sup>9</sup>.

### CandiSelect®

El medio CandiSelect (Bio-Rad) es un medio selectivo que permite la identificación de *C. albicans* mediante la hidrólisis del sustrato cromogénico presente lo que origina el desarrollo de un color azul por las colonias de esta especie. La inoculación e incubación son similares a los otros medios cromogénicos. *C. albicans* se identifica por la presencia de colonias lisas azules y el resto de las levaduras manifiesta un color blanco en sus colonias. A las 48 h de incubación, algunas cepas de *C. tropicalis* y *Trichosporon* spp. pueden también desarrollar colonias azules, pero morfológicamente son diferentes a *C. albicans*<sup>9, 188</sup>.

### Fluoroplate Candida®

El Agar Fluoroplate Candida (Merck) permite identificar macroscópicamente *C. albicans* por su capacidad de hidrolizar el sustrato 4-metilumbeliferil- N-acetil-β-D-galactosaminida, por la enzima N-acetil-galactosaminidasa (NAGasa), originando una fluorescencia blanquecina al iluminar la placa con luz ultravioleta. El resto de las especies no presenta fluorescencia. La siembra en este medio se realiza de forma convencional y las placas se incuban a 30-37°C durante 18-24 h. La lectura se realiza, en la oscuridad, colocando las placas sobre un transiluminador de luz ultravioleta de 365 nm (Linus)<sup>187, 189</sup>.

### Agar SDCA-MUAG®

El agar SDCA-MUAG (Biolife) es un medio muy parecido al anterior en cuya composición está presente, como sustrato, el 4-metilumberiferil-2-acetamida-2-desoxi-β-D-galactosaminida. Se interpreta de igual forma por la aparición de fluorescencia difusible de las colonias de *C. albicans*, emitida al iluminarse con luz ultravioleta a 365 nm<sup>190</sup>.

#### ***6.6.2.1.2 Sistemas enzimáticos comercializados para la identificación rápida de C. albicans***

En el mercado existen varios sistemas enzimáticos comercializados para la identificación rápida de *C. albicans* a partir de una colonia aislada en cualquiera de los medios convencionales. En todos ellos se detecta una o dos enzimas (β-galactosaminidasa y L-prolina aminopeptidasa), sólo

presentes en *C. albicans*. Para la detección de estas enzimas, los sistemas comerciales pueden utilizar sustratos fluorogénicos o cromogénicos <sup>9</sup>.

#### 6.6.2.1.2.1 Sistemas enzimáticos que utilizan sustratos fluorogénicos

Para su utilización, todos estos sistemas requieren el empleo de una lámpara de luz ultravioleta de 365 nm (Linus) <sup>9</sup>.

##### *BactiCard Candida*®

La tarjeta BactiCard Candida (Remel) integra dos tests independientes para detectar la presencia de las enzimas  $\beta$ -galactosidasa (MUGAL) y L-prolina aminopeptidasa (PRO). La enzima MUGAL tiene la capacidad de hidrolizar el sustrato 4-metilumbeliferil-N-acetil- $\beta$ -D-galactosaminida y producir la liberación de 4-etilumbeliferona que es una sustancia fluorescente capaz de ser detectada al iluminarse con luz ultravioleta de 365 nm. La enzima PRO hidroliza al sustrato L-prolina- $\beta$ -naftilamida y reacciona con el *Color Developer* originando un color rojo <sup>9</sup>.

#### 6.6.2.1.2.2 Sistemas enzimáticos que utilizan un sustrato cromogénico

Estos sistemas utilizan sustratos cromogénicos para detectar las enzimas MUGAL y PRO por lo que no requieren el uso de la lámpara de luz ultravioleta <sup>9</sup>. Entre ellos destacan:

##### *Candida albicans Screen*®

El *Candida albicans Screen* ® (CAS; Carr-Scarborough Microbiologicals, Inc., Estofe Mountain, Ga.) se basa en la alteración de un sustrato prueba y la adición de un segundo sustrato combinado en un tubo de reacción y produciendo un resultado colorimétrico más que fluorimétrico. Este ensayo está basado en una detección colorimétrica de dos enzimas: L-prolina aminopeptidasa y  $\beta$ -galactosaminidasa. Los sustratos *p*-nitrofenil-N-acetil-D-galactosaminida (NGL) y L-prolina  $\beta$ -naftilamida (PRO) se combinan en un tubo que contiene 0,30 ml de líquido, donde se suspenden las colonias de levaduras a identificar. El desarrollo de un distintivo amarillo, después de añadir los reactivos, indica una reacción NGL positiva. Un resultado PRO positivo se reconoce por el desarrollo de un color rosa a rojo en la parte alta del líquido. Una reacción positiva para NGL y PRO se considera presuntiva para la identificación de *Candida albicans* <sup>191</sup>.

*Murex C. albicans CA50®*

Murex *C. albicans* (Murex Diagnostic) utiliza como sustratos p-nitrofenil-N-β-acetil β-D galactosaminida y p-dimetilcinnamaldehido. Requiere una incubación de 30 min a 37°C<sup>9</sup>.

#### **6.6.2.1.3 Sistemas enzimáticos comercializados para la identificación rápida de C. glabrata**

##### **GLABRATA RTT®**

Es un método sencillo que precisa un pequeño inóculo para su realización y cuyos resultados se obtienen en menos de 20 min, por lo que actualmente es la técnica comercializada más rápida para la identificación de *C. glabrata*<sup>9</sup>.

GLABRATA RTT (Fumouze Diagnostics) consiste en un panel plástico de tres pocillos con medio deshidratado (T, M y B); los pocillos T y M contienen trehalosa y maltosa, respectivamente, y si éstos azúcares son asimilados por la levadura, se origina glucosa que es detectada mediante una reacción de oxidación. El pocillo B se utiliza como control y manifiesta la presencia de cualquier carbohidrato libre que, procedente del medio de cultivo, pudiera dar lugar a un resultado falso positivo en los otros pocillos. Solo con las cepas de la especie *C. glabrata* se obtiene un resultado positivo en el pocillo de trehalosa y negativo en el de maltosa; las demás levaduras son trehalosa negativa o positiva, pero en los casos positivos, la maltosa también es positiva<sup>9</sup>.

#### **6.6.3 Identificación basada en métodos de asimilación de nutrientes**

##### **6.6.3.1 Auxonograma convencional**

Se fundamenta en la aplicación por separado de diferentes nutrientes, hidrocarbonados o nitrogenados, sobre un medio sintético base para apreciar el crecimiento selectivo de una levadura en la cercanía de los nutrientes necesarios para su desarrollo. Para su realización pueden emplearse soluciones acuosas esterilizadas por filtración, cilindros de Oxford en pocillos hechos en el agar o bien discos de papel absorbente empapados con el nutriente. Sin embargo, las pruebas de asimilación en medios líquidos no ofrecen ninguna ventaja adicional sobre los medios sólidos, resultando mucho más laboriosas y costosas<sup>9</sup>.

Como fuente de carbono se puede ensayar todos los azúcares y alcoholes conocidos. Como substrato de nitrógeno se suele emplear peptona, asparagina, urea, sulfato amónico, nitrato de potasio y aminoácidos diversos <sup>9</sup>.

### **6.6.3.2 Auxacolor®**

La galería Auxacolor (Bio-Rad) es un sistema de identificación basado en la asimilación de 13 azúcares que permite identificar 26 especies diferentes de levaduras. El crecimiento de la levadura se visualiza por el cambio de un indicador de pH. La galería incorpora, además, una prueba de resistencia a la actidiona y otra para la detección de la actividad fenol-oxidasa de *C.neoformans* <sup>9</sup>.

Cualquier azúcar es deshidratado en presencia de una solución básica y un pH indicador, bromocresol púrpura <sup>192</sup>. El crecimiento de la levadura se indica por el cambio de color del indicador de azul a amarillo, y el desarrollo de turbidez en la celdilla. La resistencia a la actidiona se refleja por el crecimiento y el cambio de color del indicador de óxido-reducción de azul a rosa o incolora. La actividad de fenoloxidasas se determina por el cambio de color observado (verde o marrón) en el pocillo. La identificación final se basa en la combinación de las pruebas bioquímicas con criterios morfológicos y fisiológicos: pigmentación, artrósporas, cápsula, micelio/pseudomicelio, clamidosporas y crecimiento a 37°C <sup>193-195</sup>.

### **6.6.3.3 Sistema Uni-Yeast-Tek®**

El sistema Uni-Yeast Tek (Remel) está constituido por una placa plástica con múltiples compartimentos que contienen un medio con agar para la asimilación diferencial de siete hidratos de carbono. También incorpora una cubeta central con agar harina de maíz-Tween 80 para determinar el crecimiento micelial y la producción de clamidosporas <sup>177</sup>.

Además, está provisto de agar urea, agar para la asimilación y reducción de nitratos y de un caldo con extracto de carne al 2,6% (con 0,05% de glucosa) para realizar la prueba del tubo germinal <sup>196</sup>.

#### **6.6.4 Sistemas semiautomáticos**

En la actualidad se han comercializado diversos métodos de asimilación de nutrientes que simplifican tanto su uso como su interpretación <sup>9</sup>.

##### **6.6.4.1 API 20C AUX®**

La galería API 20 C AUX (bioMérieux) se compone de 20 cúpulas con sustratos deshidratados que permiten realizar 19 pruebas de asimilación. Las cúpulas se inoculan con un medio mínimo semisólido y las levaduras sólo se reproducen si son capaces de utilizar el sustrato correspondiente. Permite identificar un total de 34 especies diferentes <sup>9,197</sup>.

La lectura de estas reacciones se hace por comparación con un control de crecimiento y la identificación se obtiene, a partir de un código numérico, mediante un catálogo analítico o un programa informático <sup>9</sup>.

##### **6.6.4.2 Galería ID 32C®**

La galería ID 32 C (bioMérieux) está compuesta por diferentes pruebas de asimilación y por una base de datos especialmente adaptada. Permite identificar 63 especies diferentes de organismos levaduriformes o relacionados y puede ser utilizada manualmente o bien de forma automatizada mediante los sistemas ATB Expression o mini API <sup>9</sup>.

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. El procedimiento para la inoculación de la galería, incubación e interpretación es similar al descrito para el sistema API 20 C AUX. La única diferencia es la posibilidad de realizar la lectura de la galería, de forma automática, mediante el sistema ATB Expression o mini API <sup>9</sup>.

##### **6.6.4.3 Sistema Vitek®**

Las tarjetas Yeast Biochemical Card (YBC) del sistema Vitek (bioMérieux) permiten la identificación de organismos levaduriformes y afines de forma automatizada. Son unas tarjetas plásticas desechables que incluyen 30 celdillas: 26 pruebas bioquímicas convencionales y 4 controles. Por otra parte, el sistema Vitek consta de un módulo con cámara de vacío para

inoculación de las tarjetas, un lector/incubador, un sistema automático de manipulación de tarjetas, un fotómetro para medir la densidad óptica, un ordenador central y una impresora. El sistema Vitek permite identificar 36 especies diferentes de levaduras: 16 especies del género *Candida*, 6 *Cryptococcus*, 3 *Rhodotorula*, 2 *Trichosporon*, 3 *Geotrichum*, 2 *Prototheca*, *Hansenula anomala*, *Pichia ohmeri*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Yarrowia lipolytica*<sup>198, 199</sup>.

### **6.6.5 Sistemas automáticos**

#### **6.6.5.1 Sistema Vitek 2®**

El sistema Vitek 2 (bioMérieux) es un sistema totalmente automático para la detección del metabolismo fúngico que puede identificar levaduras y organismos afines en tan sólo 15 h. Está basado en tecnología de fluorescencia y se compone de las tarjetas de análisis con 63 pocillos, una consola satélite para la recogida de información, un módulo incubador, un módulo principal donde se procesa la información gracias a un software de análisis y un sistema experto avanzado<sup>9</sup>.

El sistema Vitek 2 permite la identificación de 51 especies diferentes, incluida *C. dubliniensis*. Al igual que los sistemas semiautomáticos, requiere pruebas adicionales (fundamentalmente morfológicas) en caso de baja discriminación<sup>9</sup>.

#### **6.6.5.2 Sistema Biolog YT MicroPlate®**

El sistema Biolog YT MicroPlate (Biolog) permite la identificación de organismos levaduriformes mediante 94 pruebas bioquímicas, llegando a identificar hasta un total de 267 especies diferentes pertenecientes a 53 géneros<sup>9</sup>.

#### **6.6.5.3 Rapid Yeast Identification Panel MicroScan®**

El Rapid Yeast Identification Panel MicroScan (Dade Behring) es un método automatizado para la identificación rápida de 40 especies de levaduras y otros microorganismos afines. Se basa en la utilización de pruebas convencionales y cromogénicas en una placa de microdilución de 96 pocillos que utiliza 27 sustratos deshidratados<sup>9</sup>.

El fundamento de las reacciones de identificación para los sustratos aminoácido-naftilamida se caracteriza porque cuando el enzima, generalmente, un aminoácido arilamidasa, correspondiente hidroliza al sustrato, se libera  $\beta$ -naftilamina. Esta se detecta añadiendo  $p$ -dimetilamino-cinamaldehído (en el reactivo peptidasa) que produce un complejo que es de color rosa-púrpura. En el caso de los carbohidratos, la utilización de la sacarosa o trehalosa produce un descenso en el pH. El indicador rojo clorofenol cambia de púrpura a amarillo. Estas reacciones de carbohidratos son selectivas y pueden no ajustarse a las reacciones convencionales<sup>200</sup>.

### **6.6.6 Identificación rápida de levaduras mediante pruebas bioquímicas y enzimáticas**

#### **6.6.6.1 RapID Yeast Plus System®**

El RapID Yeast Plus System (Remel) es un sistema compuesto por un panel de 18 pocillos; cada uno contiene un sustrato convencional o cromogénico que detecta la asimilación de carbohidratos, ácidos orgánicos o aminoácidos, así como la hidrólisis de la urea y de ácidos grasos. Permite identificar hasta 43 especies de levaduras<sup>9, 201</sup>.

En la lectura se obtiene un código de 6 dígitos y se comparan con el listado proporcionado por el fabricante, mediante una base de datos en un programa electrónico.

Las pruebas usadas en el RapID Yeast Plus System están basadas en la degradación microbiana de los sustratos específicos detectados por varios sistemas indicadores. Las reacciones empleadas son una combinación de ensayos tradicionales y pruebas de un solo sustrato cromogénico. El RapID Yeast Plus System consiste en 18 sustratos convencionales y cromogénicos para la identificación de levaduras como son 5 carbohidratos, éster de ácido graso, 8 sustratos nitrofenilos, urea, 3 aminoácidos  $\beta$ -naftilamidas<sup>201, 202</sup>.

#### **6.6.6.2 Fongiscreen 4H®**

Fongiscreen 4H (Bio-Rad) es un sistema basado en el estudio del perfil enzimático de algunas levaduras, permitiendo identificar en 4 h *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. neoformans*. La utilización de sustratos deshidratados por las enzimas fúngicas se manifiesta por un cambio de color, ya sea espontáneamente o después de añadir un reactivo revelador<sup>9</sup>.

## **6.6.7 Identificación mediante criterios inmunológicos**

### **6.6.7.1 Bichro-latex albicans®**

Bichro-latex albicans (Fumouze) es un método para la identificación rápida de aislamientos *C. albicans* por aglutinación de partículas látex utilizando un anticuerpo monoclonal específico de *C. albicans*<sup>9</sup>.

La prueba se realiza con dos reactivos distintos: a) bolas de látex recubiertas con anticuerpos monoclonales que reaccionan específicamente con el antígeno de *C. albicans* localizado en su pared celular, y b) un agente disociante que permite la exposición al antígeno<sup>9</sup>.

### **6.6.7.2 Krusei-color®**

Krusei-color (Fumouze) es un método para la identificación de aislamientos de *C. krusei* por aglutinación de partículas de látex, mediante un anticuerpo monoclonal que reacciona específicamente con el antígeno localizado en su pared. Cuando las colonias de *C. krusei* se disocian con el reactivo *Krusei color*® se produce una aglutinación roja y si la levadura no es *C. krusei* el reactivo mantiene su apariencia original. El kit contiene un reactivo *Krusei-color* y 5 portaobjetos<sup>9, 203</sup>.

### **6.6.7.3 Bichro-Dubli®**

Bichro-Dubli® (Fumouze) es un método para la identificación rápida de *C. dubliniensis*, basado en la coaglutinación de blastosporas de esta especie con partículas de látex recubiertas con anticuerpos monoclonales, el cual permite la detección específica de un antígeno de *C. dubliniensis* localizado en la superficie de la célula. La emulsión de colonias de *C. dubliniensis* en el reactivo *Bichro-Dubli* revela una coaglutinación, visible a simple vista, entre las blastosporas que portan el antígeno y las partículas de látex sensibilizadas con anticuerpos monoclonales, aglutinados azules que progresivamente se extienden hacia la periferia, formando un borde azul alrededor de un área central roja/rosa<sup>9</sup>.

### 6.6.8 Identificación mediante pruebas moleculares

La diferenciación de las diversas especies de *Candida* en los laboratorios se ha realizado mayormente por métodos menos confiables como la serotipificación, la morfología de la colonia, técnicas convencionales de cultivo y análisis fenotípicos o bioquímicos de las colonias. No obstante, las mejoras en la tecnología molecular para la identificación de especies de *Candida*, ha hecho posible que actualmente se pueda utilizar este método en la investigación.

El análisis de ADN polimórfico amplificado (RAPD), ha superado estas limitaciones durante el último par de años. Sin embargo, métodos como la PCR directa o PCR múltiple no se han utilizado ampliamente a pesar de ser altamente sensible y específica con un tiempo corto de determinación de la especie que se desea. La PCR múltiple es un ensayo de diagnóstico rápido que combina muchas especies de cebadores específicos en un tubo de PCR. Por lo tanto, podría ser utilizado para identificar más de una especie en una muestra al mismo tiempo. Sin embargo sigue siendo un método costoso, pues se necesita de varios cebadores al mismo tiempo y limita la capacidad de detectar otras especies de levaduras que pudieran estar presentes en una muestra vaginal. Aun así se ha convertido en un método de investigación importante y confirmatorio en la discriminación y diferenciación de algunas especies como lo son *C. albicans* de *C. dubliniensis*. Otra utilidad es la determinación de genes de resistencia en *Candida spp*<sup>7, 160</sup>.

Holmes y colaboradores<sup>204</sup> describieron una técnica de amplificación de PCR para la detección de *C. albicans* en muestras clínicas mediante cebadores complementarios para el rDNA 5S extraído y la región espaciadora no transcrita adyacente en el DNA cromosómico de la levadura.

### 6.7 Tratamiento

Tabla 3. Tratamiento de la VVC no complicada <sup>205</sup>
<u>Antimicóticos tópicos</u>
Imidazólicos
<ul style="list-style-type: none"><li>• Clotrimazol 2% crema vaginal 5 g/24 h 7 días</li><li>• Clotrimazol comprimido vaginal 100 mg/12-24 h, 3-7 días</li><li>• Clotrimazol comprimido vaginal 500 mg/24 h, 1 día</li><li>• Miconazol 2% crema vaginal 5 g/24 h, 14 días</li><li>• Ketoconazol 400 mg óvulo vaginal/24 h, 3-5 días</li></ul>

- Econazol 150 mg óvulo vaginal/24 h, 3 días
- Fenticonazol 200 mg óvulo vaginal/24 h, 3 días
- Fenticonazol 600 mg óvulo vaginal/24 h, 1 día
- Sertaconazol 2% crema vaginal 5 g/24 h, 7 días
- Sertaconazol 500 mg óvulo vaginal/24 h, 1 día

**Poliénicos**

- Nistatina 100.000 U comprimido vaginal/24 h, 14 días

**Piridona**

Antimicóticos sistémicos

Triazólicos

- Fluconazol 150 mg/24 h, 1 día vía oral.
- Itraconazol 200 mg/12 h, 1 día, o 200 mg/24 h, 3 días, vía oral

Imidazólicos

- Ketoconazol 200 mg 2 comprimidos/24 h, 5 días, vía oral

Embarazo

- Clotrimazol 100 mg óvulo vaginal/24 h durante 7 días o miconazol

**Tabla 4. Tratamiento de la VVC recidivante<sup>205</sup>**

Tratamiento inicial (doble tratamiento)

Tópico vaginal

- Clotrimazol 100 mg/día x 12 días
- Clotrimazol 500 mg/semana x 2 semanas
- Sertaconazol 500 mg/semana x 2 semanas
- Fenticonazol 600 mg/día x 3 días

Oral

- Fluconazol 150 mg/3 días, 3 dosis
- Itraconazol 200 mg/día x 10 días

Tratamiento inicial (triple tratamiento)

Oral: Itraconazol 200 mg/día x 10 días

Tópico vaginal: Clotrimazol 500 mg/semana x 2 semanas

Tópico cutáneo: Clotrimazol Una aplicación/día x 2 semanas

Tratamiento de mantenimiento

Tópico vaginal

- Clotrimazol 500 mg/semana x 6-12 meses
- Sertaconazol 500 mg/semana x 6-12 meses
- Fenticonazol 600 mg/semana x 5-12 meses

Oral

- Fluconazol 150 mg/semana 6-12 meses
- Itraconazol 100 mg/día ó 200 mg/posmenstrual x 6-12 meses
- Ketoconazol 100 mg/día x 6-12 meses

## 7. MATERIALES Y MÉTODOS

**7.1 Tipo de estudio:** Descriptivo de corte transversal

**7.2 Área de estudio:** La ciudad de León está ubicada en la parte occidental de Nicaragua, entre las coordenadas 12° 26' de latitud norte y 86° 53' de longitud oeste. Limita al Norte con los municipios de Quezalguaque y Télica, al Sur con el Océano Pacífico, al Este con los municipios de Larreynaga, La Paz Centro y Nagarote y al Oeste con los municipios de Corinto y Chichigalpa (Dpto. de Chinandega). Tiene aproximadamente 355,000 habitantes. El 54,519 son mujeres mayores de 15 años<sup>206</sup>. De acuerdo al Sistema Local de Atención Integral en Salud (SILAIS) el municipio de León está dividido en tres territorios, cada uno con un centro de salud cabecera: Sutiava (Félix Pedro Picado), Perla María Norori y Mántica Berio, Dichos centros brindan atención ginecológica, odontológica, medicina general, atención integral a la niñez, entre otras, a la población que corresponde a cada territorio; y fueron el área base de realización de este estudio.

**7.3 Población:** Las mujeres mayores de 15 años de la ciudad de León que presenten vaginitis. En base a que el 75% de las mujeres padecen vaginitis una vez en su vida<sup>11</sup>, la población estimada de mujeres con vaginitis por levaduras en la ciudad de León es de 40,889.

**7.4 Muestra:** Fueron 391 mujeres con infecciones vaginales, procedentes de los territorios Mántica Berio, Perla María Norori y Sutiava, que asistieron a consulta ginecológica de los respectivos 3 centros de salud cabeceras de la ciudad de León durante el período de octubre-diciembre del 2013. La muestra fue obtenida en base a la siguiente fórmula:

$$n = \frac{N z_{\alpha/2}^2 P(1-P)}{(N-1)e^2 + z_{\alpha/2}^2 P(1-P)}$$

N = población: 40,889 (según censo del 2005)

Z= estadístico al 95%: 1.96

P= proporción de individuos con la característica: 0.41<sup>23</sup>

e= error muestra: 0.05

**7.5 Muestreo:** por conveniencia.

**7.6 Criterios de inclusión:**

- Que presenten vaginitis.
- Que tengan 15 años o más
- Que acepten participar en el estudio.

**7.7 Criterios de exclusión:**

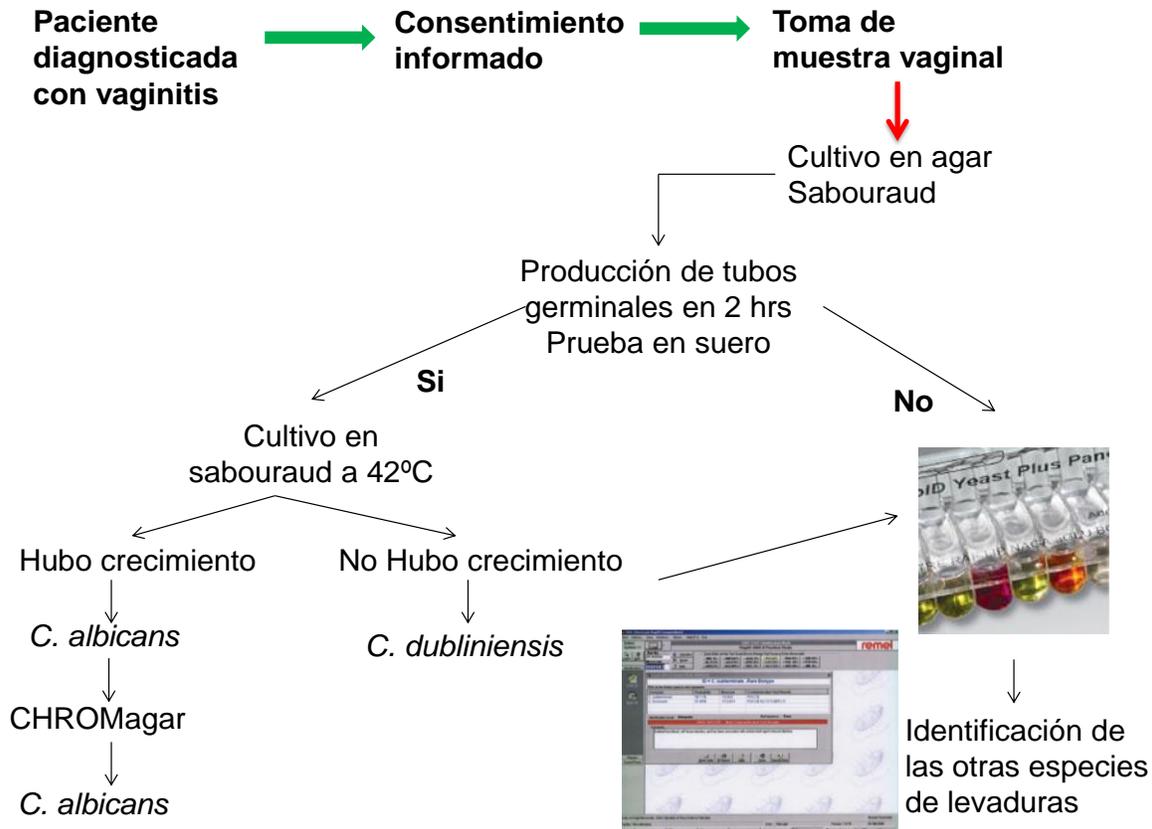
- Que hayan recibido tratamiento antimicótico vaginal o sistémico en los últimos 15 días.
- Que presenten sangrado vaginal de cualquier origen.
- Que presenten cáncer genital.
- Que se hayan realizado duchas vaginales o hayan mantenido relaciones sexuales en las últimas 72 hrs previo a la toma de muestra.

**7.8 Fuente de información:**

Primaria. Se realizó mediante el llenado de una ficha que contenía las variables que dieron cumplimiento a los objetivos del estudio.

**7.9 Procedimiento de recolección de la información:**

Se llenó una ficha que contenía las variables que permitieron el cumplimiento de los objetivos del estudio. Las muestras de exudado vaginal se recolectaron 5 veces por semana en cada centro de salud por personal médico, y luego en medio de transporte o directamente sobre el medio de cultivo, fueron transportadas al laboratorio de Microbiología y Parasitología para ser analizadas. El siguiente esquema muestra el procedimiento de recolección de la información:



### 7.9.1 Identificación de las especies de levaduras:

Las muestras se cultivaron en medio agar Sabouraud con cloranfenicol y se incubaron por 24-48 horas. Para la identificación de *C. albicans* se realizó la prueba de filamentación en suero en busca de tubos germinales. A las levaduras que desarrollaron tubos germinales se les hizo un segundo cultivo a 42°C. A las levaduras que crecieron a esa temperatura se les clasificó como *C. albicans* y se cultivaron en CHROMagar para su confirmación. A las levaduras que no crecieron a 42°C y a las que no desarrollaron tubos germinales, se les realizó la prueba de Rapid Yeast Plus System para su identificación.

#### 7.9.1.1 Procedimiento para el Rapid Yeast Plus System:

- 1) Añadir con un asa estéril colonias de cultivo puro en 2 ml de fluido de inoculación hasta que la turbidez de la suspensión oculte completamente las líneas negras de la tarjeta de inoculación.
- 2) Transferir todo el fluido de inoculación a la cubeta de inoculación garantizando que éste se distribuya homogéneamente a lo largo de las depresiones de la cubeta.
- 3) Inclinar lentamente el panel hacia delante hasta que el contenido del inóculo fluya en cada pocillo de reacción.

- 4) Incubar los paneles a 30°C, sin CO<sub>2</sub> durante 4 horas.
- 5) Añadir 1 gota del reactivo "A" a los pocillos del 7 al 14 y una gota del reactivo "B" a los pocillos del 16 al 18. Esperar al menos 30 segundos, pero no más de un minuto, para examinar la reactividad de cada pocillo de prueba.
- 6) Leer cada reacción observando el cambio de color en cada pocillo y anotarlas como positivas o negativas.
- 7) Introducir los resultados positivos y negativos o las puntuaciones del patrón resultante, en la base de datos del programa ERIC, suministrado con el kit, para la identificación de la especie.

**7.9.1.2 Control de calidad:** se realizó con una cepa de control interno de *C. albicans* que fue comparada con el control positivo de una prueba API.

#### **7.10 Aspectos éticos:**

- Las participantes en el estudio, leyeron y firmaron un consentimiento informado (anexo1).
- Los resultados obtenidos fueron llevados al centro de salud con el compromiso de que las autoridades correspondientes los entregaran de forma personal a cada una de las participantes.
- La información obtenida a través de la ficha de recolección de datos y los resultados del procesamiento de las muestras en el laboratorio, fueron manejados de manera estricta y confidencial.
- El presente trabajo de investigación fue presentado al comité de Ética de la Facultad de Ciencias Médicas con el propósito de ser evaluado y aprobado por dicho comité (anexo3).

#### **7.11 Plan de análisis de los datos:**

Los datos fueron analizados mediante el programa estadísticos SPSS versión 15.0. Se obtuvieron frecuencias absolutas y relativas. Las variables se asociaron con la prueba de chi-cuadrado y Razón de prevalencia. Los datos se agruparon en tablas y gráficos.

## 7.12 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLE

VARIABLE	DEFINICIÓN	INDICADOR	ESCALA
<b>Edad</b>	Tiempo transcurrido en años desde el nacimiento hasta el momento de la entrevista.	Entrevista	1) 15 - 30 años 2) 31- 45 años 3) 46 – 60 años 4) 61 a más años
<b>Ocupación</b>	Actividad realizada por la paciente en la mayoría de su tiempo.	Entrevista	1) Ama de casa 2) Estudiante 3) Técnica 4) Domestica 5) Profesional 6) Comerciante 7) Otros
<b>Escolaridad</b>	Máximo nivel académico alcanzado por las participantes al momento de su inclusión al estudio.	Entrevista	1) Analfabeta 2) Primaria completa 3) Primaria incompleta 4) Secundaria completa 5) Secundaria incompleta 6) Universidad completa 7) Universidad incompleta 8) Técnico medio 9) Técnico superior 10) otros
<b>Estado civil</b>	Condición jurídico-social de la encuestada.	Entrevista	1) Soltera 2) Acompañada 3) Casada 4) Viuda
<b>Embarazo</b>	Período de nueve meses de duración, en el que tiene lugar el desarrollo del embrión hasta su formación completa y se divide en tres trimestres.	Tarjeta de control prenatal	1) I Trimestre 2) II Trimestre 3) III Trimestre
<b>Diabetes</b>	Conjunto de trastornos metabólicos, que afecta a diferentes órganos y tejidos, dura toda la vida y se caracteriza por un aumento de los niveles de glucosa en la sangre.	Expediente clínico	1) Si 2) No
<b>Enfermedades Autoinmunes</b>	Enfermedad en la cual el sistema inmunitario ataca las células de su propio organismo	Expediente clínico	1) Si 2) No

<b>Uso de Anticonceptivos Orales</b>	Ingestión de medicamento con el propósito de evitar el embarazo.	Entrevista	1) Si 2) No
<b>Uso de antibióticos en el último mes</b>	Los antibióticos son sustancias químicas producidas por un ser vivo o derivado sintético, que mata o impide el crecimiento de ciertas clases de microorganismos sensibles, generalmente bacterias, incluyendo flora normal, dejando expuesta la mucosa vaginal a la invasión de otros microorganismos como levaduras.	Entrevista	1) Si 2) No
<b>Dispositivo Intrauterino</b>	Dispositivo especial, pequeño de plástico que se introduce y permanece dentro del cuerpo uterino para evitar que ocurra un embarazo.	Entrevista	1) Si 2) No
<b>Uso de Ropa Interior de nailon o Ajustada</b>	La mujer usa pantalones ajustados o ropa interior de nylon que no permite una adecuada transpiración y promueve el calor y la humedad.	Entrevista	1) Si 2) No
<b>Vida sexual activa</b>	Mantener relaciones sexuales más de una vez por semana.	Entrevista	1) Si 2) No
<b>Compañeros sexuales</b>	Personas (parejas) con las que se establece relaciones de origen sexual.	Entrevista	1) Dos ó más parejas 2) Una pareja
<b>Duchas Vaginales</b>	Método que se utiliza para lavar la vagina utilizando agua con vinagre u otra sustancia.	Entrevista	1) Si 2) No
<b>Manifestaciones clínicas</b>	Conjunto de características clínicas que permiten diagnosticar una enfermedad y diferenciarla de otras.	Entrevista	1) Picazón. 2) Ardor y sensación de quemazón. 3) Irritación. 4) Enrojecimiento. 5) Incomodidad o dolor durante las relaciones sexuales. 6) Ardor al orinar cuando roza los genitales.

<b>Vulvovaginitis</b>	Inflamación de la mucosa vulvar y vaginal.	Examen físico	1) Si 2) No
<b>Vulvovaginitis candidiásica</b>	Inflamación de la mucosa vulvar y vaginal causada por levaduras del género <i>Candida</i> .	Examen físico y datos de laboratorio	1) Si 2) No
<b>Antecedentes de infecciones vaginales</b>	Número de veces que la paciente ha presentado episodios de infecciones vaginales en el último año previo a su captación.	Expediente clínico	1) 0-1 2) 2-3 3) 4 ó más
<b>Características del flujo vaginal</b>	Características de las secreciones provenientes de la vagina en cuanto a color, aspecto y cantidad. Cualquier cambio anormal en estas características puede indicar una probable infección vaginal.	Examen físico	1) Color: Blanquecino, Amarillento-verdoso, Sanguinolento. 2) Aspecto: Homogéneo, Grumoso, Espumoso. 3) Cantidad: Escasa, Moderada, Abundante.
<b>Identificación de Levaduras</b>	Identificación de microorganismos unicelulares eucariotas del reino fungi; algunos son parte de la flora normal de la vagina, pero pueden comportarse como oportunistas.	-Cultivo en Sabouraud a 37°C y 42°C -Filamentación en suero -CHROMagar -Método de Rapid Yeast Plus System	Levaduras de los géneros: 1) <i>Candida</i> 2) <i>Saccharomyces</i> 3) <i>Trichosporon</i> 4) <i>Rhodotorula</i> 5) <i>Cryptococcus</i> .

## 8. RESULTADOS

### Perfil Epidemiológico.

Se analizó un total de 391 muestras de exudados vaginales de mujeres mayores de 15 años de la ciudad de León con vulvovaginitis. La edad media de estas mujeres, fue de 31 años. El 41% (161/391) de las mujeres pertenecían al territorio Perla María Norori, 31% (121/391) al Mántica Berio y 28% (109/391) a Sutiava. Se obtuvo una frecuencia global de vulvovaginitis asociada a levaduras del 27% (106/391). La frecuencia por territorio fue de 28% (45/161), 24.8% (30/121) y 28.4% (31/109) para Perla María Norori, Mántica Berio y Sutiava respectivamente.

La frecuencia de vaginitis asociada a levaduras fue mayor en las mujeres de 15 a 30 años de edad (34%), siendo este resultado estadísticamente significativo ( $p=0.02$ ). El nivel de escolaridad más frecuente fue el de Técnico medio o superior (38%), estado civil “acompañada” (30%) y el tener otras ocupaciones (35%) (Tabla 1).

Los principales factores predisponentes asociados a la vulvovaginitis por levaduras, encontrados, fueron: embarazo (36%), diabetes (54%), uso de anticonceptivos (43%), uso de ropa interior de nailon o ajustada (31%) y el haber presentado de 2 a 4 episodios de vaginitis en el último año (53%). Al analizar el uso de duchas vaginales, se encontró un porcentaje de 39%, pero no mostró significancia estadística (Tabla 2).

**Tabla 1. Características generales de la población de estudio.**

<b>Característica</b>	<b>Total (%) n = 391</b>	<b>No. (%) vaginitis asociada a levadura</b>	<b>Valor de <i>p</i>*</b>
<b>Edad en años</b>			
15 a 30	227 (58)	77 (34)	0.002
31 a 45	105 (27)	22 (21)	
46 a 60	39 (10)	5 (13)	
61 a más	20 (5)	2 (10)	
<b>Escolaridad</b>			
Analfabeta	21 (5.4)	4 (19)	NS
Primaria Completa	54 (13.8)	11 (20)	
Primaria Incompleta	61 (15.6)	17 (28)	
Secundaria Completa	64 (16.4)	18 (28)	
Secundaria Incompleta	106 (27)	30 (28)	
Universidad Completa	24 (6.1)	6 (25)	
Universidad Incompleta	43 (11)	13 (30)	
Técnico Medio	8 (2)	3 (38)	
Técnico Superior	8 (2)	3 (38)	
Otros	2 (0.5)	1 (50)	
<b>Estado civil</b>			
Soltera	102 (26)	27 (27)	NS
Casada	122 (31)	32 (26)	
Acompañada	156 (40)	46 (30)	
Viuda	11 (3)	1 (9)	
<b>Ocupación</b>			
Ama de casa	235 (60)	62 (26)	NS
Estudiante	69 (18)	18 (26)	
Técnico	2 (0.5)	0 (0)	
Domestica	27 (6.9)	8 (30)	
Profesional	14 (4)	3 (21)	
Comerciante	18 (5)	6 (33)	
Otros	26 (6.6)	9 (35)	

*Fuente: Primaria*

\* *Chi cuadrado <0.05; NS, no significativo*

**Tabla 2. Factores predisponentes asociados a la vaginitis fúngica en la población de estudio.**

<b>Factor</b>	<b>Total (%) n = 391</b>	<b>No. (%) vaginitis asociada a levadura</b>	<b>RP</b>	<b>IC (95%)</b>	<b>Valor de p*</b>
Embarazo	92 (23.5)	33 (36)	1.47	1.05 – 2.06	0.031
• <i>I Trimestre</i>	33 (36)	10 (30)			
• <i>II Trimestre</i>	34 (37)	13 (38)	--	--	NS
• <i>III Trimestre</i>	25 (27)	10 (40)			
Diabetes	13 (3)	7 (54)	2.06	1.21 – 3.50	0.027
Uso de anticonceptivos	30 (7.7)	13 (43)	1.68	1.08 - 2.63	0.037
Uso de antibióticos	28 (7)	8 (29)	1.06	0.58 – 1.95	NS
Uso de DIU	21(5)	6 (29)	1.06	0.53 – 2.12	NS
Uso de ropa ajustada o Nylon	248 (63)	76 (31)	1.46	1.01 – 2.11	0.038
Vida Sexual Activa	310 (79)	89 (29)	1.37	0.87 – 2.16	NS
• <i>2 o más parejas</i>	49 (16)	15 (31)	1.08	0.68 – 1.72	NS
• <i>Una pareja</i>	261 (84)	74 (28)			
Uso de duchas vaginales	31 (7.9)	12 (39)	1.48	0.92 – 2.39	NS
<i>Recurrencias</i>					
2 a 4 episodios/último año	19 (5)	10 (53)	2.04	1.29 – 3.23	0.010
0 a 1 episodio/último año	372 (95)	96 (27)			

Fuente: Primaria \* Chi cuadrado <0.05; NS, no significativo

**Características clínicas.** En las 106 mujeres con vulvovaginitis asociada a levaduras, la característica clínica más común fue picazón (55%), seguido de ardor y sensación de quemazón (48%) e irritación (39%), con un flujo de color blanquecino (97%), aspecto homogéneo (77%) y moderada cantidad (39%) (Tabla 3).

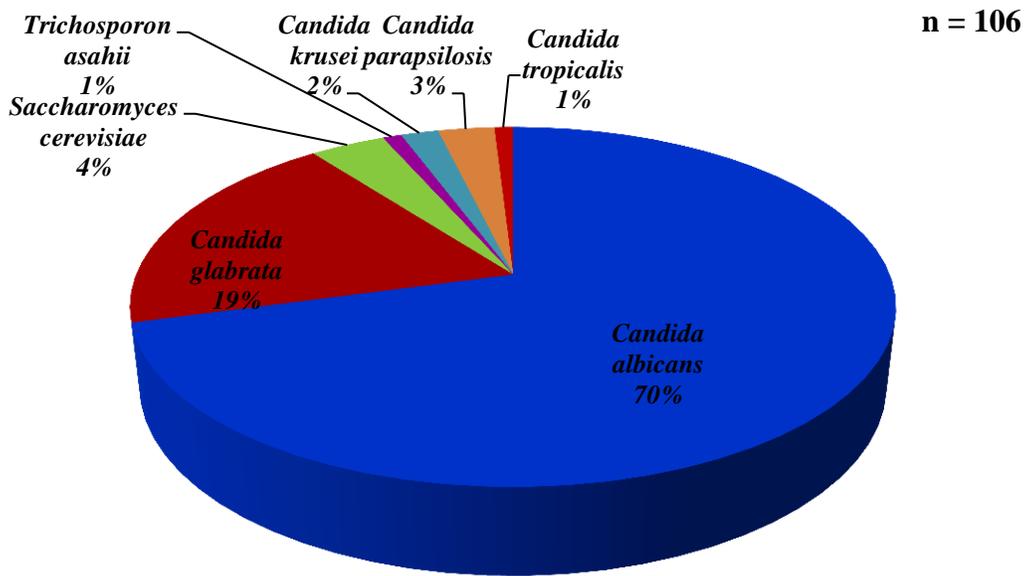
**Tabla 3. Características clínicas de la vulvovaginitis asociada a levaduras en la población de estudio.**

Característica clínica	Presencia de levaduras (%) n = 106	Ausencia de levaduras (%) n = 285	Valor de <i>p</i> *
Picazón	58 (55)	99 (35)	< 0.001
Ardor y sensación de quemazón	51 (48)	36 (13)	< 0.001
Irritación	41 (39)	107 (38)	NS
Enrojecimiento	40 (38)	113 (40)	NS
Incomodidad o dolor durante las relaciones sexuales	32 (30)	58 (20)	0.040
Disuria	40 (38)	97 (34)	NS
Color del flujo			
• <i>Blanquecino</i>	103 (97)	258 (91)	0.028
• <i>Amarillo verdoso</i>	3 (3)	27 (10)	
Aspecto del flujo			
• <i>Homogéneo</i>	82 (77)	213 (75)	NS
• <i>Grumoso</i>	23 (22)	65 (23)	
• <i>Espumoso</i>	1 (1)	7 (3)	
Cantidad del flujo			
• <i>Escaso</i>	34 (32)	120 (42)	0.041
• <i>Moderado</i>	41 (39)	113 (40)	
• <i>Abundante</i>	31 (29)	52 (18)	

Fuente: Primaria \* Chi cuadrado <0.05; NS, no significativo

**Identificación de levaduras.** Las 106 cepas aisladas, identificadas mediante el método Rapid Yeast Plus System, fueron levaduras de los géneros *Candida* (95%), *Saccharomyces* (4%) y *Trichosporon* (1%), siendo las principales especies *Candida albicans* (70%) y *Candida glabrata* (19%) (Gráfico 2).

**Gráfico 2. Distribución porcentual de especies de levaduras asociadas a vulvovaginitis.**



Fuente: Primaria

**Perfil epidemiológico vs especie de levadura.** Al relacionar la edad de la paciente con la especie de levadura encontrada, se observó que *C. albicans* afectó con mayor frecuencia a mujeres entre 46 a 60 años de edad, *C. glabrata* a mujeres mayores de 61 años, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, y *S.cerevisiae*, afectaron con mayor frecuencia a mujeres entre 31 a 45 años. Los único aislamiento de *C. tropicalis* y *T. asahii* correspondían a mujeres de 16 y 33 años respectivamente (Tabla 4).

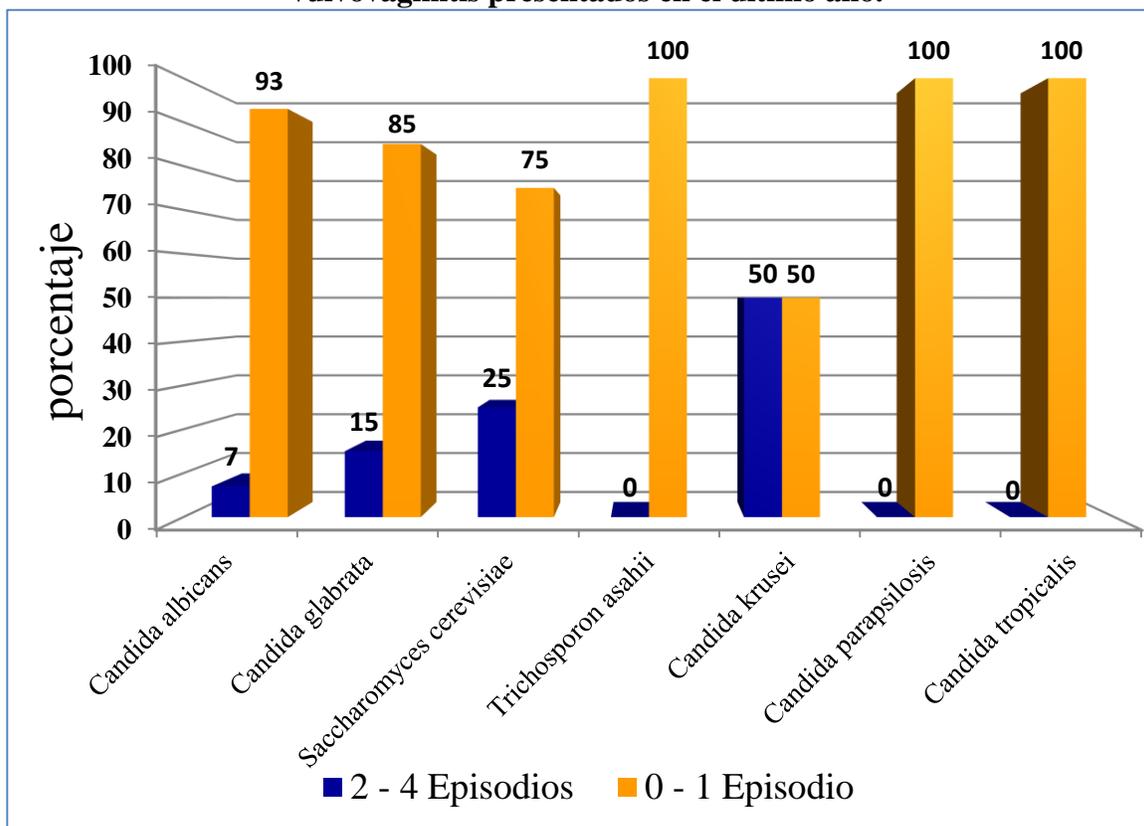
De las 33 embarazadas con vaginitis por levaduras, el 76% y 15% tenían vaginitis asociadas a *C.albicans* y *C. glabrata* respectivamente, siendo más frecuente en el II trimestre del embarazo *C. albicans* (92%) y I trimestre *C. glabrata* (60%) (Tabla 4).

Se presentó vaginitis asociada a *C. albicans* principalmente en mujeres diabéticas (72%), que usaban anticonceptivos (85%), que habían tomado antibiótico en el último mes (50%), utilizaban DIU (67%), hacían uso de ropa interior de nailon o ajustada (67%), tenían una vida sexual activa (71%) y usaban duchas vaginales (75%) (Tabla 4).

La única paciente que presentó *T. asahii*, usaba ropa interior de nailon o ajustada y tenía una vida sexual activa con más de dos parejas. La paciente con el aislamiento de *C. tropicalis* se encontraba en el III trimestre de embarazo, usaba duchas vaginales y tenía una vida sexual activa con más de dos parejas (Tabla 4).

Las levaduras más frecuentemente aisladas de las mujeres que sufrieron entre 2 a 4 episodios de vulvovaginitis en el último año fueron: *C. krusei* (50%), *S. cerevisiae* (25%) y *C. glabrata* (15%) (Gráfico 3).

**Gráfico 3. Distribución porcentual de las especies de levaduras según episodios de vulvovaginitis presentados en el último año.**



Fuente: Primaria.

**Tabla 4. Factores predisponente según especie de levadura identificada.**

Factor	No. (%) especie de levadura							Valor de p*
	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida glabrata</i>	<i>Sacchar. cerevisiae</i>	<i>Trich. asahii</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	
<b>Edad en años</b>								
• 15 a 30 (n=77)	57 (74)	13 (17)	3 (4)	--	1 (1)	2 (3)	1 (1)	
• 31 a 45 (n=22)	13 (59)	5 (23)	1 (4.5)	1(4.5)	1 (4.5)	1 (4.5)	--	NS
• 46 a 60 (n=5)	4 (80)	1 (20)	--	--	--	--	--	
• 61 a más (n=2)	1 (50)	1 (50)	--	--	--	--	--	
Embarazo (n=33)	25 (76)	5 (15)	2 (6)	--	--	--	1 (3)	NS
• I Trimestre (n=10)	6 (60)	4 (40)	--	--	--	--	--	
• II Trimestre (n=13)	12 (92)	--	1 (8)	--	--	--	--	NS
• III Trimestre (n=10)	7 (70)	1 (10)	1 (10)	--	--	--	1 (10)	
Diabetes† (n=7)	5 (72)	1 (14)	1 (14)	--	--	--	--	NS
Uso de anticonceptivos (n=13)	11 (85)	1 (8)	--	--	1 (8)	--	--	NS
Uso de antibióticos (n=8)	4 (50)	3 (38)	1 (12.5)	--	--	--	--	NS
Uso de DIU (n=6)	4 (67)	2 (33)	--	--	--	--	--	NS
Uso de ropa interior de nailon o ajustada (n=76)	51 (67)	17 (22)	4 (5)	1 (1)	2 (3)	1 (1)	--	NS
Vida Sexual Activa (n=89)	63 (71)	16 (18)	4 (4.5)	1 (1)	2 (2)	2 (2)	1 (1)	NS
• 2 ó más parejas (n=15)	8 (53)	4 (27)	--	1 (7)	--	1 (7)	1 (7)	0.028
• Una pareja (n=74)	55 (74)	12 (16)	4 (5)	0 (0)	2 (3)	1 (1)	--	
Uso de duchas vaginales (n=12)	9 (75)	2 (17)	--	--	--	--	1 (8)	NS

Fuente: Primaria\* Chi cuadrado <0.05; NS, no significativo

†De las mujeres diabéticas que presentaron vaginitis asociada a levaduras, el 71% (5/7) de ellas, presentó disuria.

**Características clínicas vs especie de levadura.** Al relacionar las características clínicas más comunes con la especie de levadura aislada, se encontró que de las 75 mujeres con vulvovaginitis por *C. albicans*, la mayoría presentó picazón (57%), ardor y sensación de quemazón (44%), flujo blanquecino (99%), aspecto homogéneo (79%) y moderada cantidad de la secreción (43%). En las mujeres con vulvovaginitis que se aisló *C. glabrata*, presentaron un perfil clínico similar al de *C. albicans*, con la diferencia de que el 50% presentó además irritación. Solamente 2/106 mujeres tenían vaginitis asociada a *C. krusei*, de éstas el 50% presentó picazón, ardor y sensación de quemazón, enrojecimiento y flujo en abundante cantidad (Tabla 5).

A diferencia de las características clínicas presentes en las mujeres con vaginitis asociadas a las especies de *Candida* mencionadas anteriormente, las mujeres con *C. parapsilosis* presentaron un flujo blanquecino (100%), homogéneo (100) y en escasa cantidad (67%); y ninguna de estas presentó picazón, ardor y sensación de quemazón (Tabla 5).

En las mujeres con vulvovaginitis asociada a *S. cerevisiae*, las principales características clínicas fueron: picazón (100%), ardor y sensación de quemazón (75%), con flujo blanquecino (100%), grumoso (75%) y en abundante cantidad (50%) (Tabla 5).

Solamente hubo un aislamiento de *T. asahii* y *C. tropicalis*. En el caso de *T. asahii* la paciente presentó, ardor y sensación de quemazón, irritación, enrojecimiento y flujo color amarillo verdoso, grumoso y en abundante cantidad. En el caso de vulvovaginitis por *C. tropicalis* los síntomas fueron: ardor y sensación de quemazón, ardor al orinar y con flujo blanquecino, homogéneo y en escasa cantidad.

**Tabla 5. Características Clínicas de la población según la especie de levadura identificada.**

Característica clínica	No. (%) especie de levadura					Valor de p*
	<i>Candida albicans</i> n = 75	<i>Candida glabrata</i> n = 20	<i>Sacchar. cerevisiae</i> n = 4	<i>Candida krusei</i> n = 2	<i>Candida parapsilosis</i> n = 3	
Picazón	43 (57)	10 (50)	4 (100)	1(50)	--	NS
Ardor y sensación de quemazón	33 (44)	12 (60)	3 (75)	1 (50)	--	NS
Irritación	30 (40)	10 (50)	--	--	--	NS
Enrojecimiento	27 (36)	8 (40)	2 (50)	1 (50)	1 (33)	NS
Incomodidad o dolor durante las relaciones sexuales	21 (28)	6 (30)	2 (50)	2 (100)	1 (33)	NS
Disuria	30 (40)	7 (35)	2 (50)	--	--	NS
Color del flujo						
• <i>Blanquecino</i>	74 (99)	19 (95)	4 (100)	2 (100)	3 (100)	< 0.001
• <i>Amarillo verdoso</i>	1 (1)	1(5)	--	--	--	
Aspecto del flujo						
• <i>Homogéneo</i>	59 (79)	16 (80)	1 (25)	2 (100)	3 (100)	NS
• <i>Grumoso</i>	16 (21)	3 (15)	3 (75)	--	--	
• <i>Espumoso</i>	--	1 (5)	--	--	--	
Cantidad del flujo						
• <i>Escaso</i>	22 (29)	7 (35)	1 (25)	1 (50)	2 (67)	NS
• <i>Moderado</i>	32 (43)	7 (35)	1 (25)	--	1 (33)	
• <i>Abundante</i>	21 (28)	6 (30)	2 (50)	1 (50)	--	

Fuente: Primaria

\* Chi cuadrado <0.05; NS, no significativo

## 9. DISCUSIÓN

Varios estudios demuestran que las infecciones vaginales por levaduras, han tomado importancia en los últimos 30 años <sup>1,3</sup>. En Nicaragua, el diagnóstico de la candidiasis vulvovaginal durante muchos años se ha basado principalmente en la combinación de signos y síntomas y en la confirmación de la presencia de levaduras mediante el examen microscópico directo del exudado vaginal o papanicolaou; solamente existe un estudio publicado en Nicaragua, donde reportan algunas especies de levaduras clasificadas con el método de CHROMagar <sup>23</sup>. Se sabe que el examen directo es poco sensible <sup>207</sup>, y el método de CHROMagar permite identificar solamente 4 especies de levaduras del género *Candida*, confirmando la presencia de *C. albicans*, pero identificando presuntivamente las otras tres especies de levaduras <sup>181, 183</sup>. Por esa razón en este estudio se utilizó, además de los métodos anteriormente mencionados, el método de Rapid Yeast Plus System, que permite identificar 43 especies de levaduras.

Este estudio reveló una frecuencia de vulvovaginitis asociada a levaduras del 27%. Esta frecuencia es similar a las reportadas por Llovera S. y cols., en la ciudad de La Habana y Mendoza M y cols., en Venezuela, donde encontraron un 34.16% y 22% de vaginitis asociadas a levaduras respectivamente <sup>3, 49</sup>; otros estudios también reportan prevalencias similares <sup>17, 55</sup>. Sin embargo, en Nicaragua Darce M. y cols., en la ciudad de Managua reportaron una prevalencia más alta de 41% <sup>23</sup>, se puede explicar la diferencia con los valores encontrados en este estudio, en que el número de muestras utilizada en el estudio de Darce fue menor y procedían de mujeres con o sin vaginitis. Otra posibilidad es que las mujeres analizadas tengan en su mayoría un estatus de no secretor de ABO-Lewis o una predisposición genética, por lo que estén más expuestas a estas infecciones <sup>41-43</sup>. El estatus de no secretor de ABO –Lewis se refiere a la ausencia en los fluidos corporales del antígeno H y los antígenos Le(a) y Le(b); según Tosh F. y Douglas L., estos antígenos están formados en su mayoría por el azúcar fucosa, que inhibe *in vitro* la adhesión de *Candida spp* al epitelio vaginal humano <sup>44</sup>, por lo que su ausencia predispone a la infección <sup>43</sup>.

Las mujeres con vaginitis asociada a levaduras tenían edades entre los rangos de 15 a 30 y 31 a 45 años de edad; este dato fue estadísticamente significativo. Foxman B. y Reed B., en sus artículos sobre factores de riesgo de la candidiasis vulvovaginal, mostraron que la edad es un factor muy importante en el inicio de las infecciones por levaduras, puesto que el inicio de la vida

sexualmente activa predispone <sup>47, 48</sup>, de una forma aún no conocida, a las infecciones vaginales por levaduras; posiblemente incluyen la transmisión sexual de éstas o, como expresa Ryley J., las laceraciones facilitan la invasión de las levaduras en la mucosa vaginal <sup>65</sup>; por otra parte, en el rango de 15 – 30 años, es en el cual la mayoría de las mujeres se somete a planificación familiar, tomando principalmente anticonceptivos orales, los que promueven la adhesión y crecimiento de la levadura a través de una mayor disponibilidad de nutrientes o la estimulación de estrógenos, según lo expresan los hallazgos de Reed B. y Powell B. y cols., <sup>48, 66</sup>. No se observó asociación estadísticamente significativa entre las mujeres que tenían vaginitis por levaduras y la escolaridad, estado civil y ocupación de la mujer, sin embargo se observó mayor frecuencia en mujeres que se encontraban acompañadas con una pareja y mujeres casadas, lo que posiblemente se deba a que la mayoría de éstas mujeres planifican su natalidad con anticonceptivos orales y además llevan una vida sexualmente activa.

Debido a que la vaginitis candidiásica continúa siendo considerada como una enfermedad oportunista donde coinciden factores del hospedero, del patógeno y del microambiente para que se desencadene la infección, en este estudio se identificaron varios factores predisponentes. Los factores en los que se observó asociación estadísticamente significativa fueron: el embarazo, diabetes, uso de anticonceptivos, uso de ropa interior de nailon o ajustada y el número de episodios de vaginitis sufridos en el último año.

Anderson B. y cols., en su artículo sobre los cambios en la inmunidad vaginal provocados por el embarazo, mostró como éste causa inmunosupresión en la mucosa vaginal <sup>59</sup>. Tcheulougou D. y cols., encontraron una asociación estadísticamente significativa entre este factor y el desarrollo de vaginitis candidiásica. Otros autores también han considerado la asociación entre el embarazo y el desarrollo de la vaginitis por levaduras <sup>54, 55, 60</sup>. Además, desde el punto de vista clínico-obstétrico, este tipo de vaginitis durante el embarazo adquiere un valor importante, debido a la transmisión vertical de la levadura al recién nacido, causando candidiasis congénita <sup>61, 208</sup> e incluso se han reportado casos de muerte fetal intrauterina y de bebés pre-término, como los encontrados en los hallazgos de Ozer E. y cols., y Pereira D. y cols., respectivamente <sup>5, 6</sup>. Por otra parte, Siavochi F. y cols., en su estudio sobre el rol de las levaduras vaginales maternas en la transmisión de *Helicobacter pylori*, propusieron a este tipo de vaginitis como el reservorio

primario de esta bacteria asociada a gastritis crónica, y por ende de su transmisión a neonatos, complicando así el panorama de las infecciones vaginales por levaduras en mujeres embarazadas<sup>62</sup>. El III trimestre del embarazo fue el período en que se presentó el mayor porcentaje de casos de vaginitis por levaduras, esto posiblemente es debido a que en este trimestre es donde la mujer presenta mayor estado de inmunosupresión, según lo reportado por Anderson B. y cols.<sup>59</sup>.

La diabetes es otro factor importante en el desencadenamiento de infecciones vaginales. Atabek M. y cols., encontraron relación significativa entre la hiperglicemia y la candidiasis vulvovaginal en pacientes con diabetes mellitus tipo 1 y demostraron que mantener el control de la glucosa en sangre podía reducir el riesgo de desarrollar la infección y sus potenciales síntomas<sup>70</sup>. Además Nyirjesy P. y Sobel J., encontraron episodios recurrentes de la infección en pacientes con diabetes mellitus tipo 2, asociados mayormente a especies de levaduras naturalmente resistentes a los antifúngicos azólicos, como por ejemplo, *C. glabrata*<sup>71</sup>; también se le ha encontrado, a esta levadura, en invasión sistémica en este tipo de pacientes<sup>209</sup>.

Es importante hacer notar que de las 7 mujeres diabéticas que presentaban vaginitis asociada a levaduras, el 71% presentó ardor al orinar. González y cols., reportaron casos de pacientes diabéticos con vaginitis e infección urinaria por *Candida spp*<sup>72</sup>. Posiblemente parte de este 71% también presentaba infección urinaria por levaduras.

Otro factor predisponente que se encontró asociado estadísticamente en este estudio, fue el uso de métodos de planificación familiar como los anticonceptivos hormonales. Zakout Y. y cols., en su estudio sobre candidiasis en mujeres que toman anticonceptivos orales mostraron que las mujeres que utilizaban este método de planificación estaban más propensas a desarrollar la infección que las que no lo utilizaban<sup>67</sup>; igualmente Ahmad A. y cols., encontraron el uso de anticonceptivos orales asociados al desarrollo de candidiasis<sup>54</sup>. Otros estudios también han demostrado que el uso de anticonceptivos orales afecta la flora normal de la vagina predisponiendo de esta manera a la infección<sup>68,69</sup>. Por otra parte, los anticonceptivos hormonales están compuestos principalmente de estrógeno y progesterona. Merkus J. y cols., demostraron que el estrógeno incrementa el nivel de glucógeno en las células del epitelio vaginal, viéndose favorecida de esta forma la

multiplicación de levaduras <sup>64</sup>. Por otro lado, Ryley J. demostró que la progesterona es capaz de adherirse a la pared de la levadura, favoreciendo su adhesividad al epitelio vaginal <sup>65</sup>.

Los Dispositivos Intrauterinos también son un método de planificación familiar que juega un papel importante en la predisposición a la infección vaginal por levaduras. En este estudio no se encontró asociación estadísticamente significativa entre este factor y el desarrollo de la infección, sin embargo, Baris I. y cols., en su estudio sobre el impacto del DIU en la citología cervical demostraron que este dispositivo altera la flora normal vaginal predisponiendo a infecciones <sup>73</sup>. También Caliskan S. y cols., y Paiva L. y cols., demostraron la formación de biopelículas de *Candida spp* en DIU extraídos de mujeres con síntomas de vaginitis, lo que sugiere la posibilidad de que estos actúen como reservorios de levaduras y puente entre el tracto genital inferior y superior, contribuyendo a la recurrencia de la infección <sup>74, 75</sup>.

Otro factor que puede afectar o eliminar la flora normal vaginal, es el uso de antibióticos principalmente los de amplio espectro ya sea en forma local o sistémica, pues propicia el crecimiento de levaduras oportunistas, predisponiendo así a la infección. En este estudio el 29% de las mujeres que tomaron antibiótico en el último mes presentaron vaginitis. Esto concuerda con lo reportado por Ahmad A. y cols., quienes encontraron asociación estadística significativa entre el desarrollo de candidiasis y el haber sido tratadas con antibiótico <sup>54</sup>.

Otro factor que tuvo significancia estadística, fue el uso de ropa interior de nailon o el uso pantalones demasiado ajustados; como se sabe, este tipo de prendas de vestir aumenta el calor y la humedad de la piel, afectando posiblemente la flora normal vaginal y favoreciendo de esta forma la proliferación de levaduras <sup>65</sup>.

En este estudio, el 53% de los que tenían entre 2 a 4 episodios de vaginitis en el último año, se les aisló levaduras. En este caso los episodios de vaginitis que haya sufrido la mujer en el último año, es importante determinarlo por dos razones. La primera razón es que más de dos episodios al año, nos puede indicar que estamos ante la presencia de una vaginitis recurrente. Como lo muestra Sobel J. en su estudio sobre la vulvovaginitis candidiásica recurrente, el 40% al 50% de las mujeres con vaginitis asociada a levaduras desarrolla recurrencias y el 5% de estas se presenta

en más de 4 episodios al año <sup>77</sup>; este dato es importante para elegir el tratamiento adecuado, siempre y cuando conozcamos la especie de levadura que la causa. Otra razón, es que mientras más episodios de vaginitis presente la mujer, el epitelio vaginal se ve más propenso a las infecciones oportunistas por levaduras.

En Nicaragua la vulvovaginitis por levaduras se diagnostica principalmente por medio de la sintomatología y las características del flujo vaginal. Esto se debe a que algunas características clínicas de la vulvovaginitis por levaduras son específicas y raras veces se encuentran en vaginitis causadas por otros microorganismos <sup>11</sup>. Las principales características clínicas encontradas en este estudio fueron picazón, ardor y sensación de quemazón e irritación con flujo blanquecino, homogéneo y en moderada cantidad. Esto concuerda con lo afirmado por Vásquez J. y Sobel J., en su estudio sobre candidiasis de las mucosas; sin embargo difiere en cuanto al aspecto del flujo, puesto que ellos mencionan que es principalmente de aspecto grumoso y no homogéneo como se encontró en este estudio <sup>161</sup>.

Los géneros de levaduras identificados en este estudio fueron *Candida* (95%), *Saccharomyces* (4%) y *Trichosporon* (1%). La demostración, en este estudio, de *C. albicans* como la principal levadura aislada y de *C. glabrata* como segundo agente etiológico en orden de frecuencia, coincide con lo informado por otras investigaciones recientes <sup>3, 10, 54, 56, 210</sup> y afirma que *C. albicans* sigue siendo la levadura más frecuente asociada a vaginitis en todo el mundo. Sin embargo, esto difiere con los hallazgos de Darce M. y cols., en Nicaragua y Mendoza M. y cols., en Venezuela, quienes encontraron a *C. tropicalis* como segundo agente después de *C. albicans* <sup>23, 49</sup>.

La identificación de las especies de levaduras no *albicans* juega un papel importante y en general se ha observado una tendencia al aumento de estas. Arechavala A. y cols., y Tortorano A. y cols., documentaron que algunas especies no *albicans* son resistentes a la terapia estándar de azoles utilizada para eliminar la infección <sup>18, 211</sup>. Nyirjesi P. y Fidel P., encontraron como principales especies no *albicans* implicadas en las vulvovaginitis recurrentes a *C. glabrata*, *C. tropicalis*, y *C. krusei*. Así mismo Sanz F. y Pazos C., describieron a *S. cerevisiae* como una levadura con sensibilidad reducida a los azoles <sup>4, 31, 38</sup>. Por otro lado, Sobel y cols., <sup>212, 213</sup> afirman que han

atribuido este aumento de resistencia al uso de antimicóticos orales y tópicos de corta duración, siendo estos últimos de venta libre; lo que conlleva a automedicación, muchas veces de manera innecesaria. Ferris D. y cols., encontraron que sólo el 34% de mujeres que utilizaron antifúngicos de venta libre para una presunta candidiasis vulvovaginal, tenían realmente la infección <sup>214</sup>.

En cuanto a las demás especies de *Candida* identificadas en este estudio, *C. krusei* y *C. parapsilosis* se encuentran entre los rangos comúnmente detectados en otros estudios, que van de 1.5 – 4% y 1.1 – 5.3% respectivamente <sup>3, 10, 49, 53</sup>. Sin embargo, *C. tropicalis* resultó en un porcentaje mucho menor que en otros estudios <sup>10, 49</sup>. También Darce M. y cols., reportaron un 23% de *C. tropicalis* en Nicaragua <sup>23</sup>, valores más elevados a lo encontrado en este estudio.

No muchos estudios identifican la presencia de *Trichosporon asahii*. Lloverá V. y cols., reportaron una prevalencia de 10.79% del género *Trichosporon*,<sup>3</sup> lo que es elevado en comparación al 1% encontrado en este estudio. Esta levadura es de amplia distribución en la naturaleza y, al igual que las demás, puede causar infecciones graves en pacientes inmunodeprimidos <sup>215</sup>. Pereira D. y cols., describieron un caso de diseminación sistémica de esta especie de levadura en un recién nacido pre-término <sup>6</sup>.

Un hallazgo interesante, en este estudio, es la identificación de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. Esta levadura ha sido considerada inocua hasta hace no mucho y de interés fundamentalmente industrial, cuya irrupción en patologías humanas guarda relación con su capacidad para colonizar el tubo digestivo. En este estudio se encontró un porcentaje del 4% de *S. cerevisiae*; esto coincide con lo reportado por Posteraro B. y cols., quienes encontraron un 5.8% en exudados vaginales en mujeres de la ciudad de Roma, pero es mucho mayor al 0.4% encontrado por McCullough M. y cols., en mujeres de Bergamo Italia y al 1.1% reportado por Nyirjesi P. y col., <sup>19, 20</sup>. Además Nyirjesi P. y cols., describieron un caso en que pudo demostrarse que la cepa causal de un episodio de vaginitis, era la misma que se obtenía de los dedos del esposo de la paciente y de la levadura con que este elaboraba pizza en un establecimiento de su propiedad <sup>57</sup>. Sanz y cols., también reportaron casos de mujeres con vaginitis recurrentes en las que encontraron como etiología a *S. cerevisiae*, pudiendo establecer un adecuado tratamiento después de su identificación <sup>4</sup>.

Al relacionar las especies de levaduras con los aspectos epidemiológicos se encontró que *C. glabrata* es más común en mujeres mayores de 61 años, mientras que las otras especies son más comunes en mujeres más jóvenes. Este hallazgo también fue encontrado en otros estudios. Mahmoudi M. y cols., y Trama J. y cols., reportaron que a medida que la detección global de *Candida* disminuía con la edad, ocurrían cambios en la distribución de las otras especies, aumentando la detección de *C. glabrata*<sup>10, 50</sup>. De modo similar, Vermitsky J. y cols., encontraron aumento en las frecuencias de las especies no *albicans*, junto con la disminución de *C. albicans* a medida que aumentaba la edad de las mujeres<sup>51</sup>. Esta distribución se ha atribuido a factores predisponentes como los cambios hormonales en la menopausia y la disminución de la respuesta inmune, junto con el desarrollo de resistencia antifúngica de estas levaduras.

El hallazgo de que todos los factores predisponentes hayan estado presentes con más frecuencia en mujeres de las cuales se aisló *C. albicans* y *C. glabrata*, se debe posiblemente a que estas especies fueron las mayormente aisladas. Sin embargo, es notorio mencionar que el uso de ropa interior de nailon o ajustada estuvo presente en todas las mujeres de las que se aislaron levaduras, a excepción de la mujer en que se aisló *C. tropicalis*. También es importante notar que al relacionar las especies de levaduras con el número de parejas sexuales de la mujer, se observó una asociación estadísticamente significativa ( $p = 0.028$ ). Aunque la vulvovaginitis por levaduras no es considerada una infección de transmisión sexual, se conoce que el hecho de tener más de una pareja sexual predispone a la transmisión de muchas infecciones, y la vulvovaginitis por levaduras no es la excepción. En este estudio, los únicos aislamientos de *T. asahii* y *C. tropicalis* pertenecían a mujeres que tenían una vida sexual activa con 2 ó más parejas.

Las especies de levaduras que se encontraron en mujeres que tenían entre 2 a 4 episodios de vaginitis en el último año fueron *C. krusei*, seguida de *S. cerevisiae*, *C. glabrata* y en menor porcentaje *C. albicans*. A excepción de *C. albicans*, estas especies de levaduras son las que se han descrito en la literatura como asociadas a vulvovaginitis recurrente<sup>4, 31, 38</sup>. Sin embargo, no se conoce si los anteriores episodios de vaginitis, estuvieron asociados a estas especies de levaduras. Conociendo que la mayoría de estas levaduras son naturalmente resistentes a la antifúngicos de

elección, se puede inferir que posiblemente estuvieron implicadas en más de uno de los episodios de vaginitis en estas mujeres.

La literatura menciona que no existe diferencia entre los síntomas clínicos presentados por las diferentes especies de levaduras <sup>4, 11, 161</sup>. Esta afirmación se comprobó en este estudio, pues los síntomas clínicos más comunes presentados por todas las especies fueron picazón y ardor y sensación de quemazón con flujo blanquecino, de aspecto homogéneo y en moderada cantidad. Sin embargo la paciente de la que se aisló *T. asahii* y el 50% de las mujeres con *S. cerevisiae* y *C.krusei* presentaron flujo abundante. En el caso de *S. cerevisiae* puede explicarse por el hecho de que 2/4 aislamientos procedían de mujeres que se encontraban en estado de embarazo, y como se sabe, este estado produce una leucorrea fisiológica abundante protectora de la mucosa vaginal.

Por otro lado, la paciente de la que se aisló *T. asahii* presentaba un flujo color amarillo verdoso, no característico de las infecciones por levaduras; esto posiblemente se deba a infección vaginal mixta con otros microorganismos como bacterias o *Trichomonas*, lo cual también podría explicar el flujo abundante. Las infecciones mixtas ya han sido documentadas por otros estudios; Mascarenhas R. y cols., encontraron un 2% de coinfecciones de especies de *Candida* con *Trichomonas* y bacterias en adolescentes en Brasil; también Tchelougou D. y cols., encontraron un 23.08% de coinfecciones en mujeres con vaginitis en Togo <sup>17, 55</sup>.

## 10.CONCLUSIONES

- Se obtuvo una frecuencia de vulvovaginitis asociada a levaduras del 27% (106/391), siendo más frecuente en mujeres de 15 a 30 años de edad (34%,  $p = 0.002$ ), con nivel de escolaridad de técnico medio o superior (38%), estado civil “acompañada” (30%) y con otras ocupaciones (35%).
- Las especies de levaduras identificadas mediante el Rapid Yeast Plus System, fueron: *C.albicans* (70%), *C. glabrata* (19%), *S.cerevisiae* (4%), *C. parapsilosis* (3%), *C. krusei* (2%), *C. tropicalis* (1%) y *T. asahii* (1%).
- Los principales factores predisponentes asociados a la vulvovaginitis por levaduras fueron: embarazo (36%), diabetes (54%), uso de anticonceptivos (43%), uso de ropa interior de nailon o ajustada (31%) y el haber presentado de 2 a 4 episodios de vaginitis en el último año (53%). Todos los factores fueron más frecuentes en mujeres de las cuales se aisló *C.albicans* y *C. glabrata*. Esta última fue más común en mujeres mayores de 61 años, y las otras especies en mujeres más jóvenes. Los únicos aislamientos de *T. asahii* y *C.tropicalis* pertenecían a mujeres que tenían una vida sexual activa con 2 ó más parejas ( $p=0.028$ ). *C.krusei*, *S. cerevisiae*, *C. glabrata* y en menor porcentaje *C.albicans* se aislaron en pacientes que sufrieron entre 2 a 4 episodios de vaginitis en el último año.
- Las manifestaciones clínicas presentadas por estas mujeres fueron similares entre las especies de levaduras identificadas y son: picazón (55%), ardor y sensación de quemazón (48%) e irritación (39%), con un flujo de color blanquecino (97%), de aspecto homogéneo (77%) y moderada cantidad (39%).

## 11.RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio analítico de cohorte que permita verificar la susceptibilidad a la vulvovaginitis por levaduras tomando en cuenta los factores predisponentes analizados en este estudio.
- Reanalizar todas las muestras con métodos que permitan la identificación de los serotipos A y B de *Candida albicans* para investigar cuál es el que más circula en nuestro medio.
- Realizar estudios que permitan identificar el perfil de resistencia fenotípica a los anti fúngicos de elección, utilizados en Nicaragua, y presencia de genes de resistencia en las levaduras identificadas.

## 12.BIBLIOGRAFIA

1. Rein M. Vulvovaginitis y cervicitis. In: Panamericana E, editor. Enfermedades Infecciosas Principios y Práctica. 4 ed. Buenos Aires1997.
2. Arenas R. Candidosis. In: Nueva Editorial Interamericana SA, editor. Micología Médica Ilustrada. 1 ed. Mexico1993. p. 223-34.
3. Llovera VS, Perurena M. Identificación de levaduras de exudados vaginales: características clínicas asociadas a la candidiasis. Revista Cubana de Medicina Tropical. 2004;56:21-5.
4. Sanz F, Pazos C. Infección vaginal causada por *Saccharomyces cerevisiae*: aspectos clínicos. Pediatría. 2002;61(662):291-3.
5. Ozer E, Unlu M, Ersen A, Gulekli B. Intrauterine fetal loss associated with *Candida glabrata* chorioamnionitis: report of two cases. Turk patoloji dergisi. 2013;29(1):77-9.
6. Pereira DN, Nader SS, Nader P, Martins PG, Furlan SP, Hentges CR. Disseminated *Trichosporon* spp infection in preterm newborns: a case report. Jornal de pediatria. 2009 Sep-Oct;85(5):459-61.
7. Segretain. G, Drouhet E, Mariat F. Mycoses de la Peau et des Muqueuses. In: Editeur MSA, editor. Diagnostic de Laboratoire en Mycologie Medicale. 4 ed. Paris1979. p. 69-81.
8. Lewis RE, Viale P, Kontoyiannis DP. The potential impact of antifungal drug resistance mechanisms on the host immune response to *Candida*. Virulence. 2012 Jul 1;3(4):368-76.
9. Sicilia MJL, Cuesta FS. Identificación de levaduras. Revista Iberoamericana de Micología. 2007 (11):1-20.
10. Mahmoudi Rad M, Zafarghandi A, Amel Zabihi M, Tavallae M, Mirdamadi Y. Identification of *Candida* species associated with vulvovaginal candidiasis by multiplex PCR. Infectious diseases in obstetrics and gynecology. 2012:872169.
11. Hainer BL, Gibson MV. Vaginitis. American family physician. 2011 Apr 1;83(7):807-15.
12. Horowitz BJ, Giaquinta D, Ito S. Evolving pathogens in vulvovaginal candidiasis: implications for patient care. Journal of clinical pharmacology. 1992 Mar;32(3):248-55.
13. E. Bouza PM. *Saccharomyces cerevisiae*: el fin de la inocencia. Revista Española Quimioterapia. 2004;17(3):227-31.

14. Jombo G OS, Egah D, Banwat, Denen A. Symptomatic vulvovaginal candidiasis and genital colonization by *Candida* species in Nigeria. *Academic Journals*. 2010;2(6):147-51.
15. Guzel AB, Ilkit M, Akar T, Burgut R, Demir SC. Evaluation of risk factors in patients with vulvovaginal candidiasis and the value of chromID *Candida* agar versus CHROMagar *Candida* for recovery and presumptive identification of vaginal yeast species. *Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology*. 2011 Jan;49(1):16-25.
16. Martins HP, Da Silva MC, Paiva LC, Svidzinski TI, Consolaro ME. Efficacy of fluconazole and nystatin in the treatment of vaginal *Candida* species. *Acta dermatovenereologica*. 2012 Jan;92(1):78-82.
17. Mascarenhas RE, Machado MS, Costa e Silva BF, Pimentel RF, Ferreira TT, Leoni FM, et al. Prevalence and risk factors for bacterial vaginosis and other vulvovaginitis in a population of sexually active adolescents from Salvador, Bahia, Brazil. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*. 2012;2012:378640.
18. Arechavala AI, Bianchi MH, Robles AM, Santiso G, Negroni R. Identificación y sensibilidad frente a fluconazol y albaconazol de 100 cepas de levaduras aisladas de flujo vaginal. *Rev Iberoam Micol*. 2007;24:305-8.
19. Posteraro B, Sanguinetti M, D'Amore G, Masucci L, Morace G, Fadda G. Molecular and epidemiological characterization of vaginal *Saccharomyces cerevisiae* isolates. *Journal of clinical microbiology*. 1999 Jul;37(7):2230-5.
20. McCullough MJ, Clemons KV, Farina C, McCusker JH, Stevens DA. Epidemiological investigation of vaginal *Saccharomyces cerevisiae* isolates by a genotypic method. *Journal of clinical microbiology*. 1998 Feb;36(2):557-62.
21. Garcia Martos P, Hernandez JM, Mira J, Galan F, Marin P. [*Saccharomyces cerevisiae* vaginitis]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 1996 Aug-Sep;14(7):453-4. Vaginitis por *Saccharomyces cerevisiae*.
22. Garcia Martos P, Dominguez I, Marin P, Garcia-Agudo L, Mira J. [Vulvovaginal candidiasis resistant to azoles]. *Enfermedades infecciosas y microbiología clínica*. 2000 Aug-Sep;18(7):367-8. Candidiasis vulvovaginal resistente a azoles.
23. Darce Bello M, Gonzalez A, Barnabe C, Larrouy G. First characterization of *Candida albicans* by random amplified polymorphic DNA method in Nicaragua and comparison of the diagnosis methods for vaginal candidiasis in Nicaraguan women. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2002 Oct;97(7):985-9.
24. Sobel J CW. Update on treatment of vulvovaginal candidiasis. *Rev Iberoam Micol* 1996;13(44):6.



38. Fidel PL, Jr., Sobel JD. Immunopathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *Clinical microbiology reviews*. 1996 Jul;9(3):335-48.
39. Neves NA, Carvalho LP, De Oliveira MA, Giraldo PC, Bacellar O, Cruz AA, et al. Association between atopy and recurrent vaginal candidiasis. *Clinical and experimental immunology*. 2005 Oct;142(1):167-71.
40. Moraes PS. Recurrent vaginal candidiasis and allergic rhinitis: a common association. *Annals of allergy, asthma & immunology: official publication of the American College of Allergy, Asthma, & Immunology*. 1998 Aug;81(2):165-9.
41. Chaim W, Foxman B, Sobel JD. Association of recurrent vaginal candidiasis and secretory ABO and Lewis phenotype. *The Journal of infectious diseases*. 1997 Sep;176(3):828-30.
42. Burford-Mason AP, Weber JC, Willoughby JM. Oral carriage of *Candida albicans*, ABO blood group and secretor status in healthy subjects. *Journal of medical and veterinary mycology : bi-monthly publication of the International Society for Human and Animal Mycology*. 1988 Feb;26(1):49-56.
43. Hilton E, Chandrasekaran V, Rindos P, Isenberg HD. Association of recurrent candidal vaginitis with inheritance of Lewis blood group antigens. *The Journal of infectious diseases*. 1995 Dec;172(6):1616-9.
44. Tosh FD, Douglas LJ. Characterization of a fucoside-binding adhesin of *Candida albicans*. *Infection and immunity*. 1992 Nov;60(11):4734-9.
45. Lev-Sagie A, Prus D, Linhares IM, Lavy Y, Ledger WJ, Witkin SS. Polymorphism in a gene coding for the inflammasome component NALP3 and recurrent vulvovaginal candidiasis in women with vulvar vestibulitis syndrome. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2009 Mar;200(3):303 e1-6.
46. Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. *Lancet*. 2007 Jun 9;369(9577):1961-71.
47. Foxman B. The epidemiology of vulvovaginal candidiasis: risk factors. *American journal of public health*. 1990 Mar;80(3):329-31.
48. Reed BD. Risk factors for *Candida* vulvovaginitis. *Obstetrical & gynecological survey*. 1992 Aug;47(8):551-60.
49. Mendoza M, Gonzalez I, Bellorin EJ, Salazar W, Mendoza L, Zambrano EA, et al. Isolation, identification and serotyping of yeasts obtained from the vaginal fluid in patients with clinical vaginitis. *Investigacion clinica*. 1999 Mar;40(1):25-36.
50. Trama JP, Adelson ME, Raphaelli I, Stemmer SM, Mordechai E. Detection of *Candida* species in vaginal samples in a clinical laboratory setting. *Infectious diseases in obstetrics and gynecology*. 2005 Jun;13(2):63-7.

51. Vermitsky JP, Self MJ, Chadwick SG, Trama JP, Adelson ME, Mordechai E, et al. Survey of vaginal-flora *Candida* species isolates from women of different age groups by use of species-specific PCR detection. *Journal of clinical microbiology*. 2008 Apr;46(4):1501-3.
52. Pam VK, Akpan JU, Oduyebo OO, Nwaokorie FO, Fowora MA, Oladele RO, et al. Fluconazole susceptibility and ERG11 gene expression in vaginal *Candida* species isolated from Lagos Nigeria. *International journal of molecular epidemiology and genetics*. 2012;3(1):84-90.
53. Correa Pdos R, David PR, Peres NP, da Cunha KC, de Almeida MT. [Phenotypic characterization of yeasts isolated from the vaginal mucosa of adult women]. *Revista brasileira de ginecologia e obstetricia*. 2009 Apr;31(4):177-81.
54. Ahmad A, Khan AU. Prevalence of *Candida* species and potential risk factors for vulvovaginal candidiasis in Aligarh, India. *European journal of obstetrics, gynecology, and reproductive biology*. 2009 May;144(1):68-71.
55. Tchelougou D, Karou DS, Kpotsra A, Balaka A, Assih M, Bamoke M, et al. Vaginal infections in pregnant women at the Regional Hospital of Sokode (Togo) in 2010 and 2011. *Medecine et sante tropicales*. 2013 Jan-Mar;23(1):49-54.
56. Paola Janeth Villarroel Rodríguez ACSCR. Identificación de especies de levaduras del género *Cándida* aislados de exudados vaginales de pacientes en el Hospital Materno Germán Urquidí. *Gaceta médica Boliviana*. 2011;32(4).
57. Nyirjesy P, Vazquez JA, Ufberg DD, Sobel JD, Boikov DA, Buckley HR. *Saccharomyces cerevisiae* vaginitis: transmission from yeast used in baking. *Obstetrics and gynecology*. 1995 Sep;86(3):326-9.
58. Wilson JD, Jones BM, Kinghorn GR. Bread-making as a source of vaginal infection with *Saccharomyces cerevisiae*. Report of a case in a woman and apparent transmission to her partner. *Sexually transmitted diseases*. 1988 Jan-Mar;15(1):35-6.
59. Anderson BL, Mendez-Figueroa H, Dahlke JD, Raker C, Hillier SL, Cu-Uvin S. Pregnancy-induced changes in immune protection of the genital tract: defining normal. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2013 Apr;208(4):321 e1-9.
60. Leli C, Mencacci A, Meucci M, Bietolini C, Vitali M, Farinelli S, et al. Association of pregnancy and *Candida* vaginal colonization in women with or without symptoms of vulvovaginitis. *Minerva ginecologica*. 2013 Jun;65(3):303-9.
61. Filippidi A, Galanakis E, Maraki S, Galani I, Drogari-Apiranthitou M, Kalmanti M, et al. The effect of maternal flora on *Candida* colonisation in the neonate. *Mycoses*. 2013 Jun 12.
62. Siavoshi F, Taghikhani A, Malekzadeh R, Sarrafnejad A, Kashanian M, Jamal AS, et al. The role of mother's oral and vaginal yeasts in transmission of *Helicobacter pylori* to neonates. *Archives of Iranian medicine*. 2013 May;16(5):288-94.

63. H. Velez FM. Vulvovaginitis Candidiasica: Patogenesis, Recurrencias y Tratamiento. *Acta Medica Colombiana*. 1987;12(3):253-5.
64. Merkus JM, Bisschop MP, Stolte LA. The proper nature of vaginal candidosis and the problem of recurrence. *Obstetrical & gynecological survey*. 1985 Aug;40(8):493-504.
65. Ryley JF. Pathogenicity of *Candida albicans* with particular reference to the vagina. *Journal of medical and veterinary mycology : bi-monthly publication of the International Society for Human and Animal Mycology*. 1986 Feb;24(1):5-22.
66. Powell BL FC, Drutz DJ. Identification of a 17p-estradiol binding protein in *Candida albicans* and *Candida (Torulopsis) glabrata*. *Mycology*.8:304-13.
67. Zakout YM, Salih MM, Ahmed HG. Frequency of *Candida* species in Papanicolaou smears taken from Sudanese oral hormonal contraceptives users. *Biotechnic & histochemistry : official publication of the Biological Stain Commission*. 2012 Feb;87(2):95-7.
68. Kazi YF, Saleem S, Kazi N. Investigation of vaginal microbiota in sexually active women using hormonal contraceptives in Pakistan. *BMC urology*. 2012;12:22.
69. De Seta F, Restaino S, De Santo D, Stabile G, Banco R, Buseti M, et al. Effects of hormonal contraception on vaginal flora. *Contraception*. 2012 Nov;86(5):526-9.
70. Atabek ME, Akyurek N, Eklioglu BS. Frequency of Vaginal *Candida* Colonization and Relationship between Metabolic Parameters in Children with Type 1 Diabetes Mellitus. *Journal of pediatric and adolescent gynecology*. 2013 Oct;26(5):257-60.
71. Nyirjesy P, Sobel JD. Genital mycotic infections in patients with diabetes. *Postgraduate medicine*. 2013 May;125(3):33-46.
72. Alberto González-Pedraza Avilés RLH, Jesús Luna Ávila, Rocío Dávila Mendoza, Catalina Ortiz Zaragoza. Infección de vías urinarias por especies de *Candida*. *Aten Primaria*. 2006;38(3):147 - 53.
73. Baris, II, Keles AN. [A review on the impact of IUD in cervical cytology: Mardin Region Data]. *Turk patoloji dergisi*. 2013;29(1):51-7. Mardin Bolgesinden Verilerle Servikal Sitolojide RIA Etkisine Bir Bakis.
74. Caliskan S, Keceli Ozcan S, Cinar S, Corakci A, Caliskan E. In vitro biofilm formation and relationship with antifungal resistance of *Candida* spp. isolated from vaginal and intrauterine device string samples of women with vaginal complaints. *Mikrobiyoloji bulteni*. 2011 Oct;45(4):697-706.
75. Paiva LC, Donatti L, Patussi EV, Svizdinski TI, Lopes-Consolaro ME. Scanning electron and confocal scanning laser microscopy imaging of the ultrastructure and viability of vaginal *Candida albicans* and non- *albicans* species adhered to an intrauterine contraceptive device.

Microscopy and microanalysis: the official journal of Microscopy Society of America, Microbeam Analysis Society, Microscopical Society of Canada. 2010 Oct;16(5):537-49.

76. Smeekens SP, van de Veerdonk FL, Kullberg BJ, Netea MG. Genetic susceptibility to *Candida* infections. *EMBO molecular medicine*. 2013 Jun;5(6):805-13.

77. Sobel JD. Epidemiology and pathogenesis of recurrent vulvovaginal candidiasis. *American journal of obstetrics and gynecology*. 1985 Aug 1;152(7 Pt 2):924-35.

78. Nicholls S, MacCallum DM, Kaffarnik FA, Selway L, Peck SC, Brown AJ. Activation of the heat shock transcription factor Hsf1 is essential for the full virulence of the fungal pathogen *Candida albicans*. *Fungal genetics and biology : FG & B*. 2011 Mar;48(3):297-305.

79. Berman J, Sudbery PE. *Candida Albicans*: a molecular revolution built on lessons from budding yeast. *Nature reviews Genetics*. 2002 Dec;3(12):918-30.

80. Sudbery P, Gow N, Berman J. The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends in microbiology*. 2004 Jul;12(7):317-24.

81. Staib P, Morschhauser J. Chlamydospore formation in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*--an enigmatic developmental programme. *Mycoses*. 2007 Jan;50(1):1-12.

82. Sudbery PE. Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nature reviews Microbiology*. 2011 Oct;9(10):737-48.

83. Jacobsen ID, Wilson D, Wachtler B, Brunke S, Naglik JR, Hube B. *Candida albicans* dimorphism as a therapeutic target. *Expert review of anti-infective therapy*. 2012 Jan;10(1):85-93.

84. Saville SP, Lazzell AL, Monteagudo C, Lopez-Ribot JL. Engineered control of cell morphology in vivo reveals distinct roles for yeast and filamentous forms of *Candida albicans* during infection. *Eukaryotic cell*. 2003 Oct;2(5):1053-60.

85. Lo HJ, Kohler JR, DiDomenico B, Loebenberg D, Cacciapuoti A, Fink GR. Nonfilamentous *C. albicans* mutants are avirulent. *Cell*. 1997 Sep 5;90(5):939-49.

86. Almeida RS, Brunke S, Albrecht A, Thewes S, Laue M, Edwards JE, et al. the hyphal-associated adhesin and invasin Als3 of *Candida albicans* mediates iron acquisition from host ferritin. *PLoS pathogens*. 2008 Nov;4(11):e1000217.

87. Zheng X, Wang Y, Wang Y. Hgc1, a novel hypha-specific G1 cyclin-related protein regulates *Candida albicans* hyphal morphogenesis. *The EMBO journal*. 2004 Apr 21;23(8):1845-56.

88. Murciano C, Moyes DL, Runglall M, Tobouti P, Islam A, Hoyer LL, et al. Evaluation of the role of *Candida albicans* agglutinin-like sequence (Als) proteins in human oral epithelial cell interactions. *PloS one*. 2012;7(3):e33362.

89. Wachtler B, Wilson D, Haedicke K, Dalle F, Hube B. From attachment to damage: defined genes of *Candida albicans* mediate adhesion, invasion and damage during interaction with oral epithelial cells. *PloS one*. 2011;6(2):e17046.
90. Cheng G, Wozniak K, Wallig MA, Fidel PL, Jr., Trupin SR, Hoyer LL. Comparison between *Candida albicans* agglutinin-like sequence gene expression patterns in human clinical specimens and models of vaginal candidiasis. *Infection and immunity*. 2005 Mar;73(3):1656-63.
91. Staab JF, Bradway SD, Fidel PL, Sundstrom P. Adhesive and mammalian transglutaminase substrate properties of *Candida albicans* Hwp1. *Science (New York, NY)*. 1999 Mar 5;283(5407):1535-8.
92. Sundstrom P, Cutler JE, Staab JF. Reevaluation of the role of HWP1 in systemic candidiasis by use of *Candida albicans* strains with selectable marker URA3 targeted to the ENO1 locus. *Infection and immunity*. 2002 Jun;70(6):3281-3.
93. Naglik JR, Moyes DL, Wachtler B, Hube B. *Candida albicans* interactions with epithelial cells and mucosal immunity. *Microbes and infection / Institut Pasteur*. 2011 Nov;13(12-13):963-76.
94. Zhu W, Filler SG. Interactions of *Candida albicans* with epithelial cells. *Cellular microbiology*. 2010 Mar;12(3):273-82.
95. Dalle F, Wachtler B, L'Ollivier C, Holland G, Bannert N, Wilson D, et al. Cellular interactions of *Candida albicans* with human oral epithelial cells and enterocytes. *Cellular microbiology*. 2010 Feb;12(2):248-71.
96. Phan QT, Myers CL, Fu Y, Sheppard DC, Yeaman MR, Welch WH, et al. Als3 is a *Candida albicans* invasin that binds to cadherins and induces endocytosis by host cells. *PLoS biology*. 2007 Mar;5(3):e64.
97. Phan QT, Fratti RA, Prasadarao NV, Edwards JE, Jr., Filler SG. N-cadherin mediates endocytosis of *Candida albicans* by endothelial cells. *The Journal of biological chemistry*. 2005 Mar 18;280(11):10455-61.
98. Park H, Myers CL, Sheppard DC, Phan QT, Sanchez AA, J EE, et al. Role of the fungal Ras-protein kinase A pathway in governing epithelial cell interactions during oropharyngeal candidiasis. *Cellular microbiology*. 2005 Apr;7(4):499-510.
99. Sun JN, Solis NV, Phan QT, Bajwa JS, Kashleva H, Thompson A, et al. Host cell invasion and virulence mediated by *Candida albicans* Ssa1. *PLoS pathogens*. 2010;6(11):e1001181.
100. Fanning S, Mitchell AP. Fungal biofilms. *PLoS pathogens*. 2012;8(4):e1002585.

101. Finkel JS, Mitchell AP. Genetic control of *Candida albicans* biofilm development. *Nature reviews Microbiology*. 2011 Feb;9(2):109-18.
102. Uppuluri P, Chaturvedi AK, Srinivasan A, Banerjee M, Ramasubramaniam AK, Kohler JR, et al. Dispersion as an important step in the *Candida albicans* biofilm developmental cycle. *PLoS pathogens*. 2010 Mar;6(3):e1000828.
103. Robbins N, Uppuluri P, Nett J, Rajendran R, Ramage G, Lopez-Ribot JL, et al. Hsp90 governs dispersion and drug resistance of fungal biofilms. *PLoS pathogens*. 2011 Sep;7(9):e1002257.
104. Nobile CJ, Nett JE, Hernday AD, Homann OR, Deneault JS, Nantel A, et al. Biofilm matrix regulation by *Candida albicans* Zap1. *PLoS biology*. 2009 Jun;7(6):e1000133.
105. Taff HT, Nett JE, Zarnowski R, Ross KM, Sanchez H, Cain MT, et al. A *Candida* biofilm-induced pathway for matrix glucan delivery: implications for drug resistance. *PLoS pathogens*. 2012;8(8):e1002848.
106. Kumamoto CA. Molecular mechanisms of mechanosensing and their roles in fungal contact sensing. *Nature reviews Microbiology*. 2008 Sep;6(9):667-73.
107. Brand A, Shanks S, Duncan VM, Yang M, Mackenzie K, Gow NA. Hyphal orientation of *Candida albicans* is regulated by a calcium-dependent mechanism. *Current biology : CB*. 2007 Feb 20;17(4):347-52.
108. Brand A, Vacharaksa A, Bendel C, Norton J, Haynes P, Henry-Stanley M, et al. An internal polarity landmark is important for externally induced hyphal behaviors in *Candida albicans*. *Eukaryotic cell*. 2008 Apr;7(4):712-20.
109. Wachtler B, Citiulo F, Jablonowski N, Forster S, Dalle F, Schaller M, et al. *Candida albicans*-epithelial interactions: dissecting the roles of active penetration, induced endocytosis and host factors on the infection process. *PloS one*. 2012;7(5):e36952.
110. Taylor BN, Hannemann H, Sehnal M, Biesecker A, Schweizer A, Rollinghoff M, et al. Induction of SAP7 correlates with virulence in an intravenous infection model of candidiasis but not in a vaginal infection model in mice. *Infection and immunity*. 2005 Oct;73(10):7061-3.
111. Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. *Microbiology and molecular biology reviews : MMBR*. 2003 Sep;67(3):400-28, table of contents.
112. Albrecht A, Felk A, Pichova I, Naglik JR, Schaller M, de Groot P, et al. Glycosylphosphatidylinositol-anchored proteases of *Candida albicans* target proteins necessary for both cellular processes and host-pathogen interactions. *The Journal of biological chemistry*. 2006 Jan 13;281(2):688-94.

113. Mavor AL, Thewes S, Hube B. Systemic fungal infections caused by *Candida* species: epidemiology, infection process and virulence attributes. *Current drug targets*. 2005 Dec;6(8):863-74.
114. Gacser A, Stehr F, Kroger C, Kredics L, Schafer W, Nosanchuk JD. Lipase 8 affects the pathogenesis of *Candida albicans*. *Infection and immunity*. 2007 Oct;75(10):4710-8.
115. Davis DA. How human pathogenic fungi sense and adapt to pH: the link to virulence. *Current opinion in microbiology*. 2009 Aug;12(4):365-70.
116. Fonzi WA. PHR1 and PHR2 of *Candida albicans* encode putative glycosidases required for proper cross-linking of beta-1,3- and beta-1,6-glucans. *Journal of bacteriology*. 1999 Nov;181(22):7070-9.
117. Muhlschlegel FA, Fonzi WA. PHR2 of *Candida albicans* encodes a functional homolog of the pH-regulated gene PHR1 with an inverted pattern of pH-dependent expression. *Molecular and cellular biology*. 1997 Oct;17(10):5960-7.
118. De Bernardis F, Muhlschlegel FA, Cassone A, Fonzi WA. The pH of the host niche controls gene expression in and virulence of *Candida albicans*. *Infection and immunity*. 1998 Jul;66(7):3317-25.
119. Vylkova S, Carman AJ, Danhof HA, Collette JR, Zhou H, Lorenz MC. The fungal pathogen *Candida albicans* autoinduces hyphal morphogenesis by raising extracellular pH. *mBio*. 2011;2(3):e00055-11.
120. Mayer FL, Wilson D, Jacobsen ID, Miramon P, Grosse K, Hube B. The novel *Candida albicans* transporter Dur31 Is a multi-stage pathogenicity factor. *PLoS pathogens*. 2012;8(3):e1002592.
121. Brock M. Fungal metabolism in host niches. *Current opinion in microbiology*. 2009 Aug;12(4):371-6.
122. Fleck CB, Schobel F, Brock M. Nutrient acquisition by pathogenic fungi: nutrient availability, pathway regulation, and differences in substrate utilization. *International journal of medical microbiology : IJMM*. 2011 Jun;301(5):400-7.
123. Frohner IE, Bourgeois C, Yatsyk K, Majer O, Kuchler K. *Candida albicans* cell surface superoxide dismutases degrade host-derived reactive oxygen species to escape innate immune surveillance. *Molecular microbiology*. 2009 Jan;71(1):240-52.
124. Lorenz MC, Bender JA, Fink GR. Transcriptional response of *Candida albicans* upon internalization by macrophages. *Eukaryotic cell*. 2004 Oct;3(5):1076-87.
125. Ghosh S, Navarathna DH, Roberts DD, Cooper JT, Atkin AL, Petro TM, et al. Arginine-induced germ tube formation in *Candida albicans* is essential for escape from murine macrophage line RAW 264.7. *Infection and immunity*. 2009 Apr;77(4):1596-605.

126. Ene IV, Adya AK, Wehmeier S, Brand AC, MacCallum DM, Gow NA, et al. Host carbon sources modulate cell wall architecture, drug resistance and virulence in a fungal pathogen. *Cellular microbiology*. 2012 Sep;14(9):1319-35.
127. Brown AJP HK, Gow NAR, Quinn J. Stress Responses in Candida In: Calderone RA, Clancy, C.J., ed. *Candida and Candidiasis*: ASM Press. Washington, DC 2012.
128. Wysong DR, Christin L, Sugar AM, Robbins PW, Diamond RD. Cloning and sequencing of a *Candida albicans* catalase gene and effects of disruption of this gene. *Infection and immunity*. 1998 May;66(5):1953-61.
129. Martchenko M, Alarco AM, Harcus D, Whiteway M. Superoxide dismutases in *Candida albicans*: transcriptional regulation and functional characterization of the hyphal-induced SOD5 gene. *Molecular biology of the cell*. 2004 Feb;15(2):456-67.
130. Hwang CS, Rhie GE, Oh JH, Huh WK, Yim HS, Kang SO. Copper- and zinc-containing superoxide dismutase (Cu/ZnSOD) is required for the protection of *Candida albicans* against oxidative stresses and the expression of its full virulence. *Microbiology (Reading, England)*. 2002 Nov;148(Pt 11):3705-13.
131. Hromatka BS, Noble SM, Johnson AD. Transcriptional response of *Candida albicans* to nitric oxide and the role of the YHB1 gene in nitrosative stress and virulence. *Molecular biology of the cell*. 2005 Oct;16(10):4814-26.
132. Monge RA, Roman E, Nombela C, Pla J. The MAP kinase signal transduction network in *Candida albicans*. *Microbiology (Reading, England)*. 2006 Apr;152(Pt 4):905-12.
133. Mayer FL, Wilson D, Jacobsen ID, Miramon P, Slesiona S, Bohovych IM, et al. Small but crucial: the novel small heat shock protein Hsp21 mediates stress adaptation and virulence in *Candida albicans*. *PloS one*. 2012;7(6):e38584.
134. Diez-Orejas R, Molero G, Navarro-Garcia F, Pla J, Nombela C, Sanchez-Perez M. Reduced virulence of *Candida albicans* MKC1 mutants: a role for mitogen-activated protein kinase in pathogenesis. *Infection and immunity*. 1997 Feb;65(2):833-7.
135. Alonso-Monge R, Navarro-Garcia F, Molero G, Diez-Orejas R, Gustin M, Pla J, et al. Role of the mitogen-activated protein kinase Hog1p in morphogenesis and virulence of *Candida albicans*. *Journal of bacteriology*. 1999 May;181(10):3058-68.
136. Csank C, Schroppel K, Leberer E, Harcus D, Mohamed O, Meloche S, et al. Roles of the *Candida albicans* mitogen-activated protein kinase homolog, Cek1p, in hyphal development and systemic candidiasis. *Infection and immunity*. 1998 Jun;66(6):2713-21.
137. Lindquist S. Heat-shock proteins and stress tolerance in microorganisms. *Current opinion in genetics & development*. 1992 Oct;2(5):748-55.

138. Lindquist S. The heat-shock response. *Annual review of biochemistry*. 1986;55:1151-91.
139. Richter K, Haslbeck M, Buchner J. The heat shock response: life on the verge of death. *Molecular cell*. 2010 Oct 22;40(2):253-66.
140. Fiori A, Kucharikova S, Govaert G, Cammue BP, Thevissen K, Van Dijck P. The heat-induced molecular disaggregase Hsp104 of *Candida albicans* plays a role in biofilm formation and pathogenicity in a worm infection model. *Eukaryotic cell*. 2012 Aug;11(8):1012-20.
141. Cowen LE, Singh SD, Kohler JR, Collins C, Zaas AK, Schell WA, et al. Harnessing Hsp90 function as a powerful, broadly effective therapeutic strategy for fungal infectious disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2009 Feb 24;106(8):2818-23.
142. LaFayette SL, Collins C, Zaas AK, Schell WA, Betancourt-Quiroz M, Gunatilaka AA, et al. PKC signaling regulates drug resistance of the fungal pathogen *Candida albicans* via circuitry comprised of Mkc1, calcineurin, and Hsp90. *PLoS pathogens*. 2010;6(8):e1001069.
143. Shapiro RS, Uppuluri P, Zaas AK, Collins C, Senn H, Perfect JR, et al. Hsp90 orchestrates temperature-dependent *Candida albicans* morphogenesis via Ras1-PKA signaling. *Current biology : CB*. 2009 Apr 28;19(8):621-9.
144. Singh SD, Robbins N, Zaas AK, Schell WA, Perfect JR, Cowen LE. Hsp90 governs echinocandin resistance in the pathogenic yeast *Candida albicans* via calcineurin. *PLoS pathogens*. 2009 Jul;5(7):e1000532.
145. Li XS, Reddy MS, Baev D, Edgerton M. *Candida albicans* Ssa1/2p is the cell envelope binding protein for human salivary histatin 5. *The Journal of biological chemistry*. 2003 Aug 1;278(31):28553-61.
146. Li XS, Sun JN, Okamoto-Shibayama K, Edgerton M. *Candida albicans* cell wall ssa proteins bind and facilitate import of salivary histatin 5 required for toxicity. *The Journal of biological chemistry*. 2006 Aug 11;281(32):22453-63.
147. Sun JN, Li W, Jang WS, Nayyar N, Sutton MD, Edgerton M. Uptake of the antifungal cationic peptide Histatin 5 by *Candida albicans* Ssa2p requires binding to non-conventional sites within the ATPase domain. *Molecular microbiology*. 2008 Dec;70(5):1246-60.
148. Sorger PK, Pelham HR. Purification and characterization of a heat-shock element binding protein from yeast. *The EMBO journal*. 1987 Oct;6(10):3035-41.
149. Sorger PK, Pelham HR. Yeast heat shock factor is an essential DNA-binding protein that exhibits temperature-dependent phosphorylation. *Cell*. 1988 Sep 9;54(6):855-64.
150. Inglis DO, Arnaud MB, Binkley J, Shah P, Skrzypek MS, Wymore F, et al. The *Candida* genome database incorporates multiple *Candida* species: multispecies search and analysis tools

with curated gene and protein information for *Candida albicans* and *Candida glabrata*. *Nucleic acids research*. 2012 Jan;40(Database issue):D667-74.

151. Narberhaus F. Alpha-crystallin-type heat shock proteins: socializing minichaperones in the context of a multichaperone network. *Microbiology and molecular biology reviews* : MMBR. 2002 Mar;66(1):64-93; table of contents.

152. Haslbeck M, Walke S, Stromer T, Ehrnsperger M, White HE, Chen S, et al. Hsp26: a temperature-regulated chaperone. *The EMBO journal*. 1999 Dec 1;18(23):6744-51.

153. Eyles SJ, Gierasch LM. Nature's molecular sponges: small heat shock proteins grow into their chaperone roles. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2010 Feb 16;107(7):2727-8.

154. Fu MS, De Sordi L, Muhlschlegel FA. Functional characterization of the small heat shock protein Hsp12p from *Candida albicans*. *PloS one*. 2012;7(8):e42894.

155. Hood MI, Skaar EP. Nutritional immunity: transition metals at the pathogen-host interface. *Nature reviews Microbiology*. 2012 Aug;10(8):525-37.

156. Almeida RS, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* iron acquisition within the host. *FEMS yeast research*. 2009 Oct;9(7):1000-12.

157. Heymann P, Gerads M, Schaller M, Dromer F, Winkelmann G, Ernst JF. The siderophore iron transporter of *Candida albicans* (Sit1p/Arn1p) mediates uptake of ferrichrome-type siderophores and is required for epithelial invasion. *Infection and immunity*. 2002 Sep;70(9):5246-55.

158. Weissman Z, Kornitzer D. A family of *Candida* cell surface haem-binding proteins involved in haemin and haemoglobin-iron utilization. *Molecular microbiology*. 2004 Aug;53(4):1209-20.

159. Citiulo F, Jacobsen ID, Miramon P, Schild L, Brunke S, Zipfel P, et al. *Candida albicans* scavenges host zinc via Pra1 during endothelial invasion. *PLoS pathogens*. 2012;8(6):e1002777.

160. Marvin ME, Williams PH, Cashmore AM. The *Candida albicans* CTR1 gene encodes a functional copper transporter. *Microbiology (Reading, England)*. 2003 Jun;149(Pt 6):1461-74.

161. Vazquez JA, Sobel JD. Mucosal candidiasis. *Infectious disease clinics of North America*. 2002 Dec;16(4):793-820, v.

162. Sobel JD. Recurrent vulvovaginal candidiasis. A prospective study of the efficacy of maintenance ketoconazole therapy. *The New England journal of medicine*. 1986 Dec 4;315(23):1455-8.

163. Netea MG, Brown GD, Kullberg BJ, Gow NA. An integrated model of the recognition of *Candida albicans* by the innate immune system. *Nature reviews Microbiology*. 2008 Jan;6(1):67-78.
164. Gauglitz GG, Callenberg H, Weindl G, Korting HC. Host defence against *Candida albicans* and the role of pattern-recognition receptors. *Acta dermato-venereologica*. 2012 May;92(3):291-8.
165. Rogers NC, Slack EC, Edwards AD, Nolte MA, Schulz O, Schweighoffer E, et al. Syk-dependent cytokine induction by Dectin-1 reveals a novel pattern recognition pathway for C type lectins. *Immunity*. 2005 Apr;22(4):507-17.
166. Gross O, Gewies A, Finger K, Schafer M, Sparwasser T, Peschel C, et al. Card9 controls a non-TLR signalling pathway for innate anti-fungal immunity. *Nature*. 2006 Aug 10;442(7103):651-6.
167. Akira S, Uematsu S, Takeuchi O. Pathogen recognition and innate immunity. *Cell*. 2006 Feb 24;124(4):783-801.
168. Moyes DL, Runglall M, Murciano C, Shen C, Nayar D, Thavaraj S, et al. A Biphasic Innate Immune MAPK Response Discriminates between the Yeast and Hyphal Forms of *Candida albicans* in Epithelial Cells. *Cell host & microbe*. 2010;8(3):225-35.
169. Heinsbroek SE, Taylor PR, Martinez FO, Martinez-Pomares L, Brown GD, Gordon S. Stage-specific sampling by pattern recognition receptors during *Candida albicans* phagocytosis. *PLoS pathogens*. 2008 Nov;4(11):e1000218.
170. Cheng S-C, van de Veerdonk FL, Lenardon M, Stoffels M, Plantinga T, Smeekens S, et al. The dectin-1/inflammasome pathway is responsible for the induction of protective T-helper 17 responses that discriminate between yeasts and hyphae of *Candida albicans*. *Journal of Leukocyte Biology*. 2011 August 1, 2011;90(2):357-66.
171. Lalor SJ, Dungan LS, Sutton CE, Basdeo SA, Fletcher JM, Mills KHG. Caspase-1-Processed Cytokines IL-1 $\beta$  and IL-18 Promote IL-17 Production by  $\gamma\delta$  and CD4 T Cells That Mediate Autoimmunity. *The Journal of Immunology*. 2011 May 15, 2011;186(10):5738-48.
172. Gow NA, van de Veerdonk FL, Brown AJ, Netea MG. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. *Nature reviews Microbiology*. 2012 Feb;10(2):112-22.
173. Odds FC. Sabouraud('s) agar. *Journal of medical and veterinary mycology : bi-monthly publication of the International Society for Human and Animal Mycology*. 1991;29(6):355-9.
174. Mackenzie DW. Serum tube identification of *Candida albicans*. *Journal of clinical pathology*. 1962 Nov;15(6):563-5.

175. Sandven P. Laboratory identification and sensitivity testing of yeast isolates. *Acta odontologica Scandinavica*. 1990 Feb;48(1):27-36.
176. Fenn JP, Segal H, Blevins L, Fawson S, Newcomb-Gayman P, Carroll KC. Comparison of the Murex *Candida albicans* CA50 test with germ tube production for identification of *C. albicans*. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 1996 Jan;24(1):31-5.
177. Salkin IF, Land GA, Hurd NJ, Goldson PR, McGinnis MR. Evaluation of YeastIdent and Uni-Yeast-Tek yeast identification systems. *Journal of clinical microbiology*. 1987 Apr;25(4):624-7.
178. Hrmova M, Drobica L. Induction of mycelial type of development in *Candida albicans* by low glucose concentration. *Mycopathologia*. 1981 Nov 11;76(2):83-96.
179. McGinnis MR. Recent taxonomic developments and changes in medical mycology. *Annual review of microbiology*. 1980;34:109-35.
180. Auger P, Joly J. Factors influencing germ tube production in *Candida albicans*. *Mycopathologia*. 1977 Oct 28;61(3):183-6.
181. Odds FC, Bornaerts R. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *Journal of clinical microbiology*. 1994 Aug;32(8):1923-9.
182. Doleans F. A new approach in bacteriology with chromogenic media. *Microbiologia (Madrid, Spain)*. 1994 Mar-Jun;10(1-2):195-202.
183. Anson JJ, Allen KD. Evaluation of CHROMagar *Candida* medium for the isolation and direct identification of yeast species from the female genital tract. *British journal of biomedical science*. 1997 Dec;54(4):237-9.
184. Bernal S, Martin Mazuelos E, Garcia M, Aller AI, Martinez MA, Gutierrez MJ. Evaluation of CHROMagar *Candida* medium for the isolation and presumptive identification of species of *Candida* of clinical importance. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 1996 Apr;24(4):201-4.
185. Willinger B, Manafi M. Evaluation of CHROMagar *Candida* for rapid screening of clinical specimens for *Candida* species. *Mycoses*. 1999 Apr;42(1-2):61-5.
186. Contreras I, San-Millan R, Agustin-Barrasa A, Ponton J, Quindos G. Utility of Albicans ID plate for rapid identification of *Candida albicans* in clinical samples. *Rapid identification of Candida albicans*. *Mycopathologia*. 1996;136(1):17-20.
187. Rousselle P, Freydiere AM, Couillerot PJ, de Montclos H, Gille Y. Rapid identification of *Candida albicans* by using Albicans ID and fluoroplate agar plates. *Journal of clinical microbiology*. 1994 Dec;32(12):3034-6.

188. Campbell CK, Holmes AD, Davey KG, Szekely A, Warnock DW. Comparison of a new chromogenic agar with the germ tube method for presumptive identification of *Candida albicans*. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 1998 May;17(5):367-8.
189. Quindos G, San Millan R, Bikandi J, Ponton J. Utility of Fluoroplate *Candida* for the rapid identification of *Candida albicans*. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica*. 1996 Dec;14(10):586-9.
190. Perry JL, Miller GR. Umbelliferyl-labeled galactosaminide as an aid in identification of *Candida albicans*. *Journal of clinical microbiology*. 1987 Dec;25(12):2424-5.
191. Perry JL, Miller GR, Carr DL. Rapid, colorimetric identification of *Candida albicans*. *Journal of clinical microbiology*. 1990 Mar;28(3):614-5.
192. Milan EP, Malheiros ES, Fischman O, Colombo AL. Evaluation of the AUXACOLOR system for the identification of clinical yeast isolates. *Mycopathologia*. 1997;137(3):153-7.
193. Romney MG, Bryce EA, Rennie RP, Sand CA. Rapid identification of clinical yeast isolates using the colorimetric AUXACOLOR system. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 2000 Feb;36(2):137-8.
194. Sheppard DC, deSouza E, Hashmi Z, Robson HG, Rene P. Evaluation of the auxacolor system for biochemical identification of medically important yeasts. *Journal of clinical microbiology*. 1998 Dec;36(12):3726-7.
195. Willemsen M, Breynaert J, Lauwers S. Comparison of Auxacolor with API 20 C Aux in yeast identification. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 1997 Jun;3(3):369-75.
196. Lin CC, Fung DY. Conventional and rapid methods for yeast identification. *Critical reviews in microbiology*. 1987;14(4):273-89.
197. Pfaller MA, Preston T, Bale M, Koontz FP, Body BA. Comparison of the Quantum II, API Yeast Ident, and AutoMicrobic systems for identification of clinical yeast isolates. *Journal of clinical microbiology*. 1988 Oct;26(10):2054-8.
198. Schulz K, Bernhardt H, Schroder G. *Candida* identification: experiences with the Vitek automated system. *Mycoses*. 1997;40 Suppl 1:86-90.
199. Fenn JP, Segal H, Barland B, Denton D, Whisenant J, Chun H, et al. Comparison of updated Vitek Yeast Biochemical Card and API 20C yeast identification systems. *Journal of clinical microbiology*. 1994 May;32(5):1184-7.
200. Behring D. MicroScan®. Manual de utilización de panel para la identificación rápida de levaduras. 1998.

201. Moghaddas J, Truant AL, Jordan C, Buckley HR. Evaluation of the RapID Yeast Plus System for the identification of yeast. *Diagnostic microbiology and infectious disease*. 1999 Dec;35(4):271-3.
202. Smith MB, Dunklee D, Vu H, Woods GL. Comparative performance of the RapID Yeast Plus System and the API 20C AUX Clinical Yeast System. *Journal of clinical microbiology*. 1999 Aug;37(8):2697-8.
203. Freydiere AM, Buchaille L, Guinet R, Gille Y. Evaluation of latex reagents for rapid identification of *Candida albicans* and *C. krusei* colonies. *Journal of clinical microbiology*. 1997 Apr;35(4):877-80.
204. Holmes AR, Cannon RD, Shepherd MG, Jenkinson HF. Detection of *Candida albicans* and other yeasts in blood by PCR. *Journal of clinical microbiology*. 1994 Jan;32(1):228-31.
205. Hidalgo MJC, Vaquero DB, Alsina JC, Arias FC, Sánchez AC, Guirao JAG, et al. Protocolo Sociedad Española de Ginecología y Obstetricia de diagnóstico y tratamiento de las infecciones vulvovaginales. Protocolo actualizado en 2012. *Progresos de Obstetricia y Ginecologia*. 2012;56(5):278-84.
206. Desarrollo INDIy. León en Cifras, Nicaragua. 2008.
207. Benesson. A. Manual para el control de las enfermedades transmisibles. 16 ed. Washington DC: Organización Panamericana de Salud; 1999.
208. Julia María Sánchez Schmidta AVV, Antonia González. Manifestaciones cutáneas en las candidiasis perinatales. *Dermatología España*. 2005;20(9):450 - 6.
209. Fennelly AM, Slenker AK, Murphy LC, Moussouttas M, Desimone JA. *Candida* cerebral abscesses: a case report and review of the literature. *Medical mycology: official publication of the International Society for Human and Animal Mycology*. 2013 Oct;51(7):779-84.
210. Cararach Tur M, Comino Delgado R, Davi Armengol E, Marimon García E, Martínez Escoriza JC, Palacios Gil-Antuñano S, et al. La vulvovaginitis candidiásica recurrente. *Progresos de Obstetricia y Ginecologia*. 2013;56(2):108-16.
211. Tortorano AM, Peman J, Bernhardt H, Klingspor L, Kibbler CC, Faure O, et al. Epidemiology of candidaemia in Europe: results of 28-month European Confederation of Medical Mycology (ECMM) hospital-based surveillance study. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*. 2004 Apr;23(4):317-22.
212. Sobel JD, Chaim W. Treatment of *Torulopsis glabrata* vaginitis: retrospective review of boric acid therapy. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*. 1997 Apr;24(4):649-52.

213. Sobel JD, Chaim W, Nagappan V, Leaman D. Treatment of vaginitis caused by *Candida glabrata*: use of topical boric acid and flucytosine. *American journal of obstetrics and gynecology*. 2003 Nov;189(5):1297-300.
214. Ferris DG, Nyirjesy P, Sobel JD, Soper D, Pavletic A, Litaker MS. Over-the-counter antifungal drug misuse associated with patient-diagnosed vulvovaginal candidiasis. *Obstetrics and gynecology*. 2002 Mar;99(3):419-25.
215. Sugita T, Ichikawa T, Matsukura M, Sueda M, Takashima M, Ikeda R, et al. Genetic diversity and biochemical characteristics of *Trichosporon asahii* isolated from clinical specimens, houses of patients with summer-type-hypersensitivity pneumonitis, and environmental materials. *Journal of clinical microbiology*. 2001 Jul;39(7):2405-11.

# *ANEXOS*



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA**  
**FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS**  
**DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGÍA Y PARASITOLOGÍA**

**DECLARACIÓN DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Yo \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ años de edad; por la presente declaro que he leído sobre la naturaleza, propósito, beneficios y riesgos del procedimiento que se llevará a cabo para la obtención de la muestra vaginal a utilizarse en la detección de levaduras, para el estudio titulado: *“Estudio clínico, epidemiológico y de laboratorio de la vulvovaginitis asociada a levaduras en mujeres mayores de 15 años de la ciudad de León, Nicaragua durante el período noviembre 2013 – enero 2014”*. También se me informó que los datos personales serán de estricta confidencialidad, que la muestra en estudio puede ser utilizada para otros procedimientos en futuros estudios y que no recibiré ningún aporte económico a cambio de participar en el estudio.

Confirmando que he comprendido los objetivos del estudio y autorizo mi participación en él.

León, \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del año \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Firma de la participante

\_\_\_\_\_

Firma del investigador

Código No. \_\_\_\_\_

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE NICARAGUA

Facultad de Ciencias Médicas

Departamento de Microbiología y Parasitología

Código No. \_\_\_\_\_

**I. Datos Generales**

Nombre y Apellido \_\_\_\_\_

1. Fecha de nacimiento \_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_/\_\_\_\_\_ Edad (años) \_\_\_\_\_

2. Dirección de domicilio \_\_\_\_\_

3. Ocupación

- Ama de casa
- Estudiante
- Técnico
- Doméstica
- Profesional
- Comerciante
- Otros  \_\_\_\_\_

4. Escolaridad

- |                       |                          |                         |                          |
|-----------------------|--------------------------|-------------------------|--------------------------|
| -Analfabeta           | <input type="checkbox"/> |                         |                          |
| -Primaria completa    | <input type="checkbox"/> | -Primaria incompleta    | <input type="checkbox"/> |
| -Secundaria completa  | <input type="checkbox"/> | -Secundaria incompleta  | <input type="checkbox"/> |
| -Universidad completa | <input type="checkbox"/> | -Universidad incompleta | <input type="checkbox"/> |
| -Técnico medio        | <input type="checkbox"/> | -Técnico superior       | <input type="checkbox"/> |
| -Otros                | <input type="checkbox"/> |                         | _____                    |

5. Estado civil

- |          |                          |             |                          |
|----------|--------------------------|-------------|--------------------------|
| -Soltera | <input type="checkbox"/> | -Acompañada | <input type="checkbox"/> |
| -Casada  | <input type="checkbox"/> | -Viuda      | <input type="checkbox"/> |

## II. Factores Predisponentes

1. Embarazo Sí  No

Edad gestacional:

I trimestre  II trimestre  III trimestre

2. Diabetes mellitus Sí  No

3. Enfermedades autoinmunes Sí  No

4. Toma anticonceptivos orales Sí  No

¿Cuál? \_\_\_\_\_

5. ¿Ha tomado antibióticos durante el último mes? Sí  No

¿Cuál? \_\_\_\_\_

6. ¿Usa usted un dispositivo intrauterino como método de planificación familiar?

Si  No

¿Cuál? \_\_\_\_\_

7. ¿Usa usted ropa interior ajustada o de nylon? Sí  No

8. Vida sexual activa Sí  No

No. Compañeros sexuales: \_\_\_\_\_

9. Duchas Vaginales Sí  No

10. ¿Cuántos episodios de vaginitis ha tenido en el último año? \_\_\_\_\_

## III. Manifestaciones clínicas

-Picazón  -Ardor y sensación de quemazón

-Irritación  -Enrojecimiento

-Incomodidad o dolor durante las relaciones sexuales

-Ardor al orinar cuando roza los genitales

#### IV. Flujo vaginal

##### 1. Color

Blanquecino       Amarillento-verdoso       Sanguinolento

##### 2. Aspecto

Homogéneo       Grumoso       Espumoso

##### 3. Cantidad

Escaso       Moderado       Abundante

#### V. Resultados de laboratorio

Cultivo \_\_\_\_\_

Prueba de filamentación \_\_\_\_\_

CHROMagar (*C. albicans*) \_\_\_\_\_

Género /especie (Rapid Yeast Plus System) \_\_\_\_\_



Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua  
Facultad de Ciencias Médicas  
UNAN - León

COMITÉ DE ÉTICA PARA INVESTIGACIONES BIOMÉDICAS (CEIB)  
"DR. URIEL GUEVARA GUERRERO"  
FWA00004523 / IRB00003342

Miembros Honorarios

Dr. Uriel Guevara Guerrero (q.e.p.d.)  
Dr. Jaime Granera Soto

Comité Ejecutivo

Dra. Nubia Pacheco Solís  
Presidenta

Dr. Efrén Castellón C.  
Vice - Presidente

Dr. Orlando Morales N.  
Secretario

Miembros alternos

Dr. Jorge Alemán Pineda  
Dra. Eliette Valladares C.  
Lic. Irella Romero S.

León, 03 de diciembre de 2013

ACTA No. 88

Lic. Kenia Abigail Castro Rodríguez  
Investigadora  
Sus Manos

Estimada Licenciada:

Hemos recibido su trabajo de Investigación titulado "Estudio Clínico, epidemiológico y de laboratorio de la vulvovaginitis asociada a levaduras en mujeres mayores de 15 años de la ciudad de León, Nicaragua, durante el periodo noviembre 2013 – enero 2014", para que sea evaluado por el Comité de ética. Habiéndose revisado y analizado dicho trabajo y que cumple con las exigencias éticas, este Comité resuelve aprobarlo. Copia de esta carta debe estar presente en el Protocolo e Informe Final.

Como Comité de Ética, valoramos muy positivamente la importancia de este trabajo. Copia de esta carta debe estar presente en el Protocolo e informe final.

Sin otro particular, nos es grato suscribirnos.

Atentamente,

  
DRA. NUBIA PACHECO SOLÍS  
Presidenta del CEIB  
Facultad de CC. MM.

  
Dr. ORLANDO MORALES NAVARRETE  
Secretario del CEIB  
Facultad de CC. MM.

  
MSc. ORLANDO MAYORGA PÉREZ  
Vice-Decano  
Facultad de Ciencias Médicas

Fundado en la Facultad de  
Ciencias Médicas  
UNAN - León  
Nicaragua  
1995  
comiteticanleon@gmail.com  
Telf. 2311-4675

Expiration data  
03/07/2014

Cc: Archivo  
NAPS/rhl

¡A la libertad por la Universidad!