

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA
MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA



Resistencia a los antifúngicos en especies de *Candida* aisladas de niños y adolescentes con VIH. Su relación con la terapia antirretroviral y estado inmunológico

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

NYDIA ALEJANDRA CASTILLO MARTÍNEZ

DIRECTORES:

Dr. José Manuel Cornejo Bravo
Dr. Luis Alberto Gaitán Cepeda

Tijuana, Baja California

Noviembre de 2019

Universidad Autónoma de Baja California
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS E INGENIERÍA

FOLIO No. 283

Tijuana, B. C., a 22 de Octubre 2019

C. Nydia Alejandra Castillo Martínez
Pasante de: Doctor en Ciencias
Presente:

POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL HOMBRE

El tema de trabajo y/o tesis para su examen profesional, en la

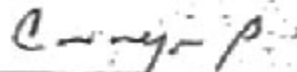
Opción TESIS

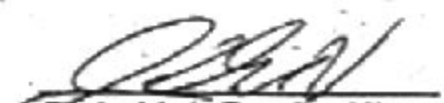
Es propuesto, por los C. Dr. José Manuel Cornejo Bravo y Dr. Luis Alberto Galtán Cepeda

Quienes serán los responsables de la calidad de trabajo que usted presente, referido al tema "Resistencia a los antifúngicos en especies de *Candida* aisladas de niños y adolescentes con VIH. Su relación con la terapia antirretroviral y estado inmunológico"

El cual deberá usted desarrollar de acuerdo con el siguiente orden:

- I. TÍTULO DEL PROYECTO
- II. RESUMEN
- III. INTRODUCCIÓN
- IV. JUSTIFICACIÓN
- V. OBJETIVO
- VI. DISEÑO METODOLÓGICO
- VII. MATERIALES Y MÉTODOS
- VIII. RESULTADOS
- IX. DISCUSIÓN
- X. CONCLUSIONES
- XI. REFERENCIAS

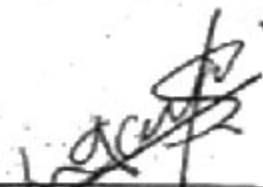

Dr. José Manuel Cornejo Bravo
Director de Tesis

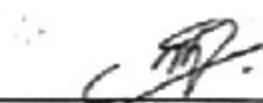

Dr. José Luis González Vázquez
Director

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE CIENCIAS
QUÍMICAS E INGENIERÍA
COORDINACIÓN DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN


Dr. Luis Alberto Galtán Cepeda
Co-Director de Tesis


Dra. Rocío Alejandra Chávez Santoscoy
Sub-Directora

AGRADECIMIENTOS

A Juana Ortiz Quezada y a todos los niños de la Casa Eunime por aceptar participar en este proyecto.

Al Dr. Graciano López del Hospital General de Tijuana, por su colaboración durante la revisión clínica de los participantes.

Al laboratorio Certus por sus atenciones para la realización de las citometrías y cargas virales.

A la Dra. Rosa Reyna Mouriño Pérez del Departamento de Microbiología Experimental del CICESE, por recibirme en su laboratorio y por su orientación durante el trabajo de investigación y revisión de las publicaciones.

Al Dr. Luis Alberto Gaitán Cepeda por su apoyo y asesoría durante el trayecto del trabajo de investigación, así como en la revisión y publicaciones de los resultados de investigación.

Al Dr. José Manuel Cornejo Bravo, por su asesoría y llevar este trabajo a buen fin.

FUENTE DE FINANCIAMIENTO

Este proyecto fue financiado por la 17 Convocatoria Interna de Proyectos de Investigación de la Universidad Autónoma de Baja California

DEDICATORIA

A mi familia, en especial a José de Jesús, a Karina y Sergio por su paciencia infinita; a Juanita y José por ser el mejor ejemplo de honestidad y trabajo.

A los niños con VIH, resilientes del abandono social.

ÍNDICE

	Página
TÍTULO DEL PROYECTO	1
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
JUSTIFICACIÓN	36
OBJETIVO	37
DISEÑO METODOLÓGICO	38
MATERIALES Y MÉTODOS	43
RESULTADOS	52
DISCUSIÓN	67
CONCLUSIONES	73
REFERENCIAS	74

ÍNDICE DE TABLAS

	Página
TABLA 1 Mecanismo de acción de los antifúngicos, clasificados por grupo farmacológico	23
TABLA 2 Mecanismos de resistencia a los antifúngicos	34
TABLA 3 Criterios para la clasificación de la inmunodeficiencia asociada a VIH en niños, de acuerdo a la cuantificación de linfocitos TCD4+ en plasma (cels/mm3)	39
TABLA 4 Criterios para falla virológica en personas con VIH	40
TABLA 5 Sistema de clasificación del CDC por estadio, para adolescentes y adultos con infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana	40
TABLA 6 Operacionalización de las variables de estudio	41
TABLA 7 Interpretación de los pozos de la galería ATB para determinar la sensibilidad a los antifúngicos	50
TABLA 8 Concentraciones críticas de antifúngicos (en µg/mL) recomendadas por la CLSI/ NCCLS para <i>Candida</i> spp.	51
TABLA 9 Características de la muestra de niños y adolescentes que viven con VIH.	52
TABLA 10 Niños y adolescentes que viven con VIH bajo tratamiento antirretroviral (TARV).	53
TABLA 11 Esquema Antirretroviral (TARAA) en niños y adolescentes con VIH.	53
TABLA 12 Niveles de Linfocitos TCD4+ (Cels/mm3) en niños y adolescentes que viven con VIH.	53
TABLA 13 Carga viral (copias/mL) en los niños y adolescentes que viven con VIH	54
TABLA 14 Especies de <i>Candida</i> aisladas de la cavidad oral de niños y adolescentes con VIH	54
TABLA 15 Manifestaciones orales de los niños y adolescentes con VIH	55
TABLA 16 Actividad antifúngica en las especies de <i>Candida</i> aisladas de la mucosa oral de niños y adolescentes con VIH institucionalizados	56
TABLA 17 Características demográficas, marcadores paraclínicos, estado inmunológico y tratamiento antirretroviral de una muestra de niños y adolescentes mexicanos VIH+ respecto del cultivo positivo de <i>Candida</i> oral.	59

TABLA 18	Características demográficas, paraclínicas, estado inmunológico y terapia antirretroviral de un grupo de niños y adolescentes mexicanos VIH+ con cultivo oral positivo de <i>Candida</i> spp. respecto de la manifestación clínica de candidiasis.		<u>61</u>
TABLA 19	Regresión logística de las manifestaciones orales por el VIH y la candidiasis pseudomembranosa en niños y adolescentes con VIH.		<u>62</u>
TABLA 20	Regresión múltiple de las manifestaciones orales asociadas a la infección por VIH y candidiasis oral en una muestra de niños y adolescentes mexicanos con VIH.		<u>63</u>
Tabla 21	Patrones de susceptibilidad a los antifúngicos de las especies de <i>Candida</i> aisladas de la mucosa oral y factores asociados a la sensibilidad y resistencia		<u>66</u>

ÍNDICE DE IMÁGENES

		Página
Imagen 1	Transmisión global de los tipos y subtipos de VIH	<u>6</u>
Imagen 2	Diferencias estructurales entre las formas inmadura y madura del Virus de Inmunodeficiencia Humana	<u>11</u>
Imagen 3	Ciclo biológico del VIH, en el que se muestran los sitios de acción de los antirretrovirales	<u>18</u>
Imagen 4	Candidiasis mucocutánea. Invasión del epitelio y receptores de reconocimiento para la inducción de los linfocitos TCD4 y Th17.	<u>28</u>

TÍTULO DEL PROYECTO

Resistencia a los antifúngicos en especies de *Candida* aisladas de niños y adolescentes con VIH. Su relación con la terapia antirretroviral y estado inmunológico.

RESUMEN

La ONUSIDA reporta la existencia de 35 millones de personas con VIH a nivel mundial, de los cuales 3.2 millones son niños y 2.1 millones son adolescentes. Las lesiones orales son las primeras manifestaciones de la infección por el VIH y pueden ayudar a predecir la progresión de la enfermedad y utilizarse como criterio para la profilaxis y terapia antirretroviral. La candidiasis oral es la manifestación más frecuente, pero se conoce muy poco acerca de los mecanismos de patogenia de las especies de *Candida* no-*albicans* en los niños y adolescentes con inmunosupresión. Con la finalidad de identificar los factores asociados a la colonización por *Candida*, candidiasis oral y la respuesta a los antifúngicos, en niños y adolescentes con VIH institucionalizados en la ciudad de Tijuana, México, se examinó la cavidad oral de 30 niños y adolescentes con VIH y se obtuvo una muestra de la mucosa oral. Para identificar las especies de *Candida* las muestras se inocularon en agar sabouraud dextrosa con cloranfenicol y en placas de agar cromogénico. Las especies se identificaron mediante sus características fenotípicas. La susceptibilidad a los antifúngicos se determinó de acuerdo con los protocolos del CLSI. Los indicadores del estado inmunológico y falla virológica se clasificaron de acuerdo a los criterios de la OMS. *Resultados:* Se identificaron seis especies de *Candida*, 53% colonizantes y 47% en casos con candidiasis, los factores asociados fueron carga viral ($p=0.001$), TCD4+ ($p=0.002$), índice de masa corporal ($p=0.005$) y esquema TARAA ($p\leq 0.014$). La especie con mayor prevalencia fue *C. glabrata* (33%), sin embargo *C. albicans* (27%) fue más resistente a flucitosina ($p=0.001$). Las especies resistentes a itraconazol se identificaron con esquemas que incluyen un INNRT ($p=0.041$). *Conclusiones:* Los niños y adolescentes con VIH institucionalizados mostraron una prevalencia elevada de *Candida spp.* colonizante y resistencia a los antifúngicos relacionada con los INNRT.

INTRODUCCIÓN

Descubrimiento del VIH como causa del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida

En 1972 Jacques Monod solicitó a Luc Montagnier que iniciara el nuevo departamento de oncología viral del Instituto Pasteur en Francia, dedicado a identificar a los retrovirus que ocasionan el cáncer en los humanos. En 1977 Montagnier y su equipo de trabajo logró cuantificar a la transcriptasa inversa (RT por sus siglas en inglés) en cultivos a corto plazo de linfocitos T provenientes de pacientes con cáncer, al utilizar la interleucina-2 (IL-2) descubierta por Robert Gallo (Montagnier, 2002). Sin embargo, los resultados mostraban algunos falsos positivos debido a la contaminación con micoplasmas.

En el mismo año que Montagnier empezara su unidad de oncología viral, Robert Gallo y su grupo de investigación de la Universidad de Maryland, desarrollaron un método sensible para detectar a la RT con la finalidad de identificar retrovirus de tumores humanos mediante la purificación de la enzima a partir de células de linfocitos humanos de leucemia. El establecimiento de los cultivos celulares los condujo al descubrimiento del factor de crecimiento de células T (IL-2). Posteriormente, en 1979 lograron el aislamiento del virus de la leucemia en células T humanas (HTLV-1) de un paciente con trastorno de células T. Por otra parte, investigadores de Japón demostraron que la leucemia de células T en adultos era originada por el HTLV-1, además señalaron que el retrovirus se dirige a los linfocitos TCD4+ y es transmitido de madre a hijo, así como por la vía sanguínea y contacto sexual. Este retrovirus humano era prevalente en algunas regiones de África y estaba asociado a los virus de la leucemia en primates y se encontraba asociado a inmunosupresión leve (Gallo, 2002a).

En 1981, médicos de New York y San Francisco en los Estados Unidos reportaron la muerte de hombres jóvenes homosexuales por infecciones oportunistas (Gottlieb et al., 1981). Un año después, el Centro para el Control y Prevención de las Enfermedades de los Estados Unidos (CDC por sus siglas en inglés) definió al Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA) como la combinación de infecciones oportunistas y tumores que ocurrían durante una reducción evidente de la cuenta de linfocitos TCD4+ circulante (Rowland-Jones, 2003).

Robert Gallo retomó las investigaciones de Max Essex, quien sustentaba que los retrovirus de la leucemia felina no solo ocasionan leucemia, sino desórdenes inmunológicos y los relacionó con la infección por HTLV-1 que infecta células TCD4+ y tiene factores de riesgo similares a los referidos para el SIDA. Además existía la evidencia clínica que las células TCD4+ eran anormales en pacientes con SIDA, así como indicios epidemiológicos de que el síndrome pudo originarse en África ecuatorial. En 1982, se propuso que el SIDA podría originarse por un retrovirus de la familia de los HTLV.

Por otra parte, en 1982 el grupo de Montagnier logró identificar en un tumor humano secuencias relacionadas a un retrovirus a partir de una sonda de ADN de tumor mamario de ratón (Crépin et al., 1984). A finales de ése mismo año, los integrantes de ambos grupos de investigación se asociaron para establecer que el retrovirus es la causa del SIDA (Montagnier, 2002). En 1983, los colaboradores de Luc Montagnier encontraron las primeras trazas de RT en el cultivo de biopsia de nódulo linfático de un paciente homosexual con linfadenopatía de cuello, pero el aislamiento del virus fue posible a partir

de muestras de pacientes con Sarcoma de Kaposi y SIDA en etapa terminal, los cuales mostraban reacción cruzada entre las proteínas gag p25 y p18. Los virus aislados de pacientes con el síndrome avanzado eran más agresivos y se nombraron virus asociados a inmunodeficiencia. Las primeras fotografías electrónicas de las partículas virales se tomaron en junio de 1983 y se mostraban diferentes al HTLV, pero muy parecidas a los lentivirus animales, lo que demostró la existencia de un nuevo retrovirus humano. En ese mismo año, Jacques Leibowitch le proporcionó a Gallo muestras de pacientes con SIDA, una de ellas provenía de un paciente que había recibido transfusiones en Haití. Se cultivaron los linfocitos TCD4⁺ del paciente con resultados positivos a RT y obtuvieron evidencia por microscopía electrónica de dos formas virales, las cuales correspondían a una forma “madura” (HTLV) y una forma “aberrante”, que posteriormente llamarían virus de la inmunodeficiencia adquirida (VIH). El equipo de Gallo logró obtener cultivos de pacientes con SIDA libres de HTLV utilizando cultivo continuo de las células TCD4⁺, lo que permitió el desarrollo de las pruebas sanguíneas para la identificación del VIH en 1984. Robert Gallo se comunicó con Montagnier para comparar resultados, sin embargo Gallo fue requerido por la Secretaria del Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos para atender una conferencia de prensa y registrar la patente de la prueba sanguínea (Gallo, 2002a).

En años posteriores se publicaron la secuencia del VIH-1, sus variaciones antigénicas, variaciones genómicas de la secuencia en un solo paciente, la presencia del virus en el cerebro de pacientes con SIDA, modos de transmisión, tropismo celular y los receptores del VIH en las células TCD4⁺ (Gallo, 2002b; Rowland-Jones, 2003).

Origen del VIH

El caso documentado más antiguo de una infección por VIH-1 se identificó en una muestra almacenada en 1959 proveniente de la ciudad de Kinshasa de la República Democrática del Congo. Es difícil conocer el tiempo exacto en que el VIH infectó a los humanos, pero todo indica que la evolución del virus inicia en la región de África central, en específico en el área de Kinshasa y Brazzaville, en donde se encuentra la mayor diversidad genética de VIH-1 del grupo M, con nueve subtipos identificados y algunas variantes (Pépin, 2013; Rowland-Jones, 2003).

Utilizando las técnicas de biología molecular para estudiar la evolución genética, se estableció la hipótesis respecto de la primera transmisión inter-especies del chimpancé al hombre, la cual pudo ocurrir durante las primeras tres décadas del siglo XX, debido a la manipulación de cadáveres de chimpancé (*Pan troglodytes troglodytes*) infectados del Virus de la Inmunodeficiencia de Simio (VIS_{cpz}). Además, la colonización europea de África central ocasionó el comercio sexual y la prostitución, lo que facilitó la emergencia del VIH-1, en especial en las ciudades de Kinshasa y Brazzaville. Otro factor que favoreció la dispersión del virus fue la administración de antibióticos y antiparasitarios por vía intravenosa, como parte del programa de control de las enfermedades tropicales y sífilis durante la Primera Guerra Mundial, práctica que no incluía la esterilización de las agujas y jeringas (Pépin, 2013; Sharp & Hahn, 2010). Durante el periodo de 1960 a 1970 el virus se exportó fuera de Kinshasa hacia otros países de África, además hacia los Estados Unidos por la vía de Haití.

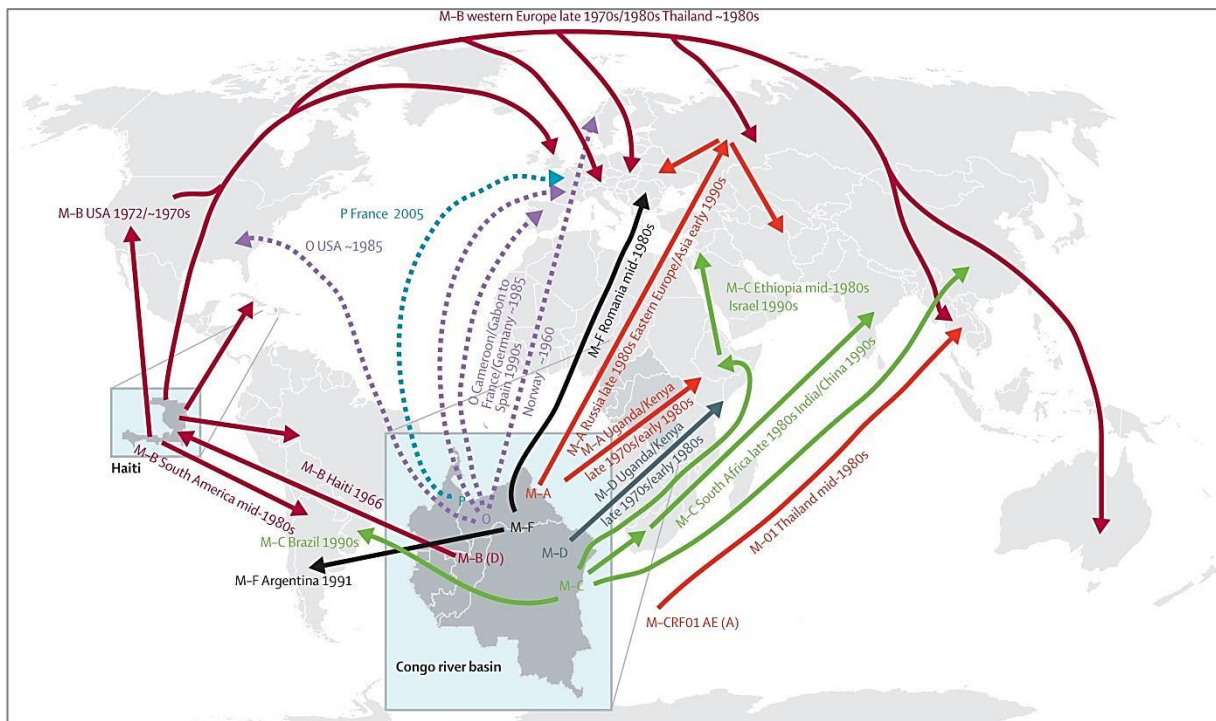


Imagen 1. Transmisión global de los tipos y subtipos de VIH.
Adaptado de: Tebit & Arts, 2011

Epidemiología de la infección por VIH

De acuerdo con el Programa Conjunto de las Naciones Unidas sobre el VIH/SIDA (ONUSIDA) existen 35 millones de personas viviendo con VIH a nivel mundial, de los cuales 3.2 millones son niños y 2.1 millones son adolescentes.

La cantidad de personas nuevas infectadas con el VIH continúa en descenso en la mayor parte del mundo. La cifra asciende a 2.1 millones de nuevos casos en el 2013, lo cual equivale a una disminución del 38% comparado con el año 2001 que reporta 3.4 millones de nuevos infectados (*The Gap Report*, 2014).

Se han logrado grandes avances en impedir las nuevas infecciones en los niños. En su informe anual de 2014 el ONUSIDA notificó 240,000 casos nuevos de VIH en promedio durante el año anterior, un 58% menos respecto del 2002, año en que se registró la mayor cantidad de casos nuevos (580,000). La reducción de casos en niños se considera una consecuencia del suministro de medicamentos antirretrovirales a las mujeres embarazadas que viven con VIH.

Se calcula que hasta el año 2013 vivían 1.6 millones de personas con VIH en América Latina, con el 75 % de los casos distribuidos en Brasil, Colombia, México y la República Bolivariana de Venezuela. El 60% de estas personas son hombres, incluyendo hombres heterosexuales, hombres homosexuales y otros hombres que tienen relaciones sexuales con hombres. La prevalencia de VIH regional respecto de la población general se calcula del 0.4% (*The Gap Report*, 2014).

Brasil y Panamá han modificado sus guías de tratamiento para las personas que viven con VIH sin importar sus niveles de linfocitos TCD4+. El Salvador, Guatemala, Uruguay y la República Bolivariana de Venezuela han adoptado la iniciativa de tratamiento a sus pacientes adultos asintomáticos con cuantificación de <500 células/mm³. El Estado Plurinacional de Bolivia, Colombia, México, Nicaragua y Perú adoptarán los mismos criterios de tratamiento en los próximos años (Organización Panamericana de la Salud Organización Mundial de la Salud, Oficina Regional de las Américas, 2013). La infección puede inducir la pobreza en las personas que viven con el VIH y en las personas afectadas por el VIH, debido en parte a la reducción de la capacidad laboral, así como al aumento de los gastos médicos. En algunos casos, el estigma y la discriminación marginan a estas personas y las excluye de los servicios básicos de salud. Algunos

países de América Latina han incorporado acciones de protección social para disminuir el impacto negativo en las personas que viven o están afectadas por el VIH. Tal es el caso del Gobierno del Ecuador que de manera reciente aprobó una nueva política pública dirigida a proteger a los niños que viven con VIH y en donde los cuidadores de los niños con VIH reciben un apoyo económico mensual.

En México, el Centro Nacional para la prevención y el Control del VIH/SIDA (CENSIDA) reporta 203,312 casos de personas que viven con VIH, desde 1983 hasta el tercer cierre de 2018. Los casos nuevos notificados ascienden a 8,174 en el 2018. El número de niños menores de 14 años que viven con el VIH notificados de 1983 a 2014, es de 4,041; el 53% del sexo masculino y el 47% de del sexo femenino, lo cual representa el 2% del total de casos de personas notificadas que viven con VIH. En el País, la proporción de hombres respecto de las mujeres es aún mayor que la reportada por ONUSIDA, 82.1% son hombres y 17.9% mujeres. En Baja California se han contabilizado 2,996 casos de personas que viven con VIH, 2158 hombres y 838 mujeres, 3.6% del total nacional (Secretaria de Salud Dirección General de Epidemiología CENSIDA, CENSIDA, & CENSIDA, 2018). Los factores principales para la transmisión del virus en los Estados del Norte de México son las relaciones sexuales heterosexuales, las relaciones sexuales entre hombres y el uso de drogas inyectables (Secretaria de Salud Dirección General de Epidemiología CENSIDA et al., 2018; Zapata-Garibay, González-Fagoaga, & Rangel-Gómez, 2014).

Un factor importante en la epidemiología del VIH es el tránsito internacional y nacional de migrantes. Esta situación aumenta la vulnerabilidad de los individuos que se enfrentan a la falta de acceso a servicios de salud o protección social, además del subregistro que

limita el conocimiento acerca del número de casos y el análisis de la situación regional, lo cual se recrudece con la falta de políticas públicas para la población migrante (Mehta et al., 2018; *The Gap Report*, 2014; Zapata-Garibay et al., 2014).

El Virus de la Inmunodeficiencia Humana

Los Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH) se agrupan en dos tipos: el VIH tipo 1 (VIH-1) y el VIH tipo 2 (VIH-2). De acuerdo a sus características genéticas se clasifica en el género *Lentivirus* y en la Familia *Retroviridae*. Las infecciones por *Lentivirus* se presentan como infecciones crónicas, con periodos largos de latencia clínica, replicación viral persistente y comprometen al sistema nervioso central (Fanales-Belasio, J.A Levy, 1993). El tipo VIH-1 es el más prevalente y con mayor variabilidad genética, a su vez se clasifica en tres grupos: el M, N y O. Más del 90% de las infecciones corresponden al grupo M, el cual se divide en nueve subtipos principales: A, B, C, D, F, G, H, J y K. En algunos casos, dos virus de diferentes subtipos pueden infectar a un organismo y se crea un virus recombinante, lo cual aumenta la variabilidad del agente infeccioso entre los individuos.

Los virus VIH-1 y VIH-2 mantienen una estructura básica y difieren en la organización de su genoma. Ambos virus pueden causar el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA), sin embargo la afección al sistema nervioso central es más frecuente en la infección por VIH-2, a pesar de ser menos virulento y el síndrome de más lenta progresión.

La estructura de la partícula viral es similar en ambos tipos de virus de la inmunodeficiencia humana, la cual tiene un diámetro de 120 nanómetros y está rodeada de una membrana de lipoproteínas. Cada partícula del virus posee una cápside cónica de proteína p24, que contiene dos hebras idénticas de ácido ribonucleico (ARN) de cadena sencilla; y por encima la matriz, compuesta de la proteína viral p17. Además contiene una cubierta que rodea a la cápside con dos capas lipídicas derivadas de la membrana celular de la célula del hospedero y que sostiene a las glicoproteínas virales gp120 y gp41 (Fanales-Belasio et al., 2010; Rodger, Johnson, & Mahungu, 2011).

El genoma del VIH es característico de todos los retrovirus. Son moléculas de ARN de cadena sencilla de 9.8 kilobases de longitud, con tres genes estructurales característicos, 5'- gag-pol-env- 3'; además dos genes regulatorios *tat* y *rev*, y tres genes accesorios *nef*, *vif*, *vpr* y *vpu* para VIH-1 y *vpx* para VIH-2 reemplazando a *vpu*. La cadena de ARN posee secuencias largas de repetición en cada uno de sus extremos (LTR) (Hope & Trono, Didier, s/f). Las regiones LTR controlan la producción de virus en respuesta a las proteínas virales o celulares.

El gen gag (antígeno específico de grupo) codifica a los precursores de las proteínas de la cápside, cuya función consiste en empaquetar el RNA genómico y participar en los estadios tempranos de la replicación. Este gen codifica a la proteína precursora Gag p55, la cual induce la gemación de la partícula viral desde la superficie de una célula infectada. Después de la gemación y durante el proceso de maduración, p55 se disocia mediante la Proteasa viral (Pro) en cuatro proteínas más pequeñas: MA (matriz, p17), CA (cápside, p24), NC (nucleocápside, p29) y p6.

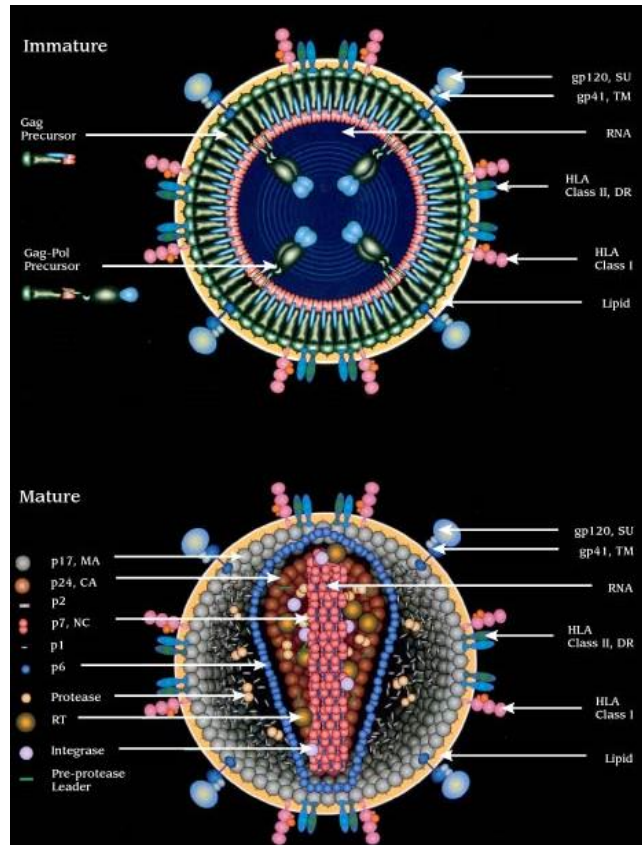


Imagen 2. Diferencias estructurales entre las formas inmadura y madura del Virus de Inmunodeficiencia Humana. (Burrell, Howard, & Murphy, 2017)

El gen *pol* codifica las enzimas virales Proteasa (Pro), Transcriptasa Inversa (RT), Ribonucleasa (RNaseH) e Integrasa (In), expresadas por las poliproteínas precursoras Gag (p55) y Gag-Pol (p160). La Proteasa es esencial para la maduración de las partículas virales al participar en la división del polipéptido Gag-Pol en sus dos componentes. La enzima Transcriptasa Inversa o RT elabora una copia de ADN de doble cadena del genoma viral de ARN, que será utilizado para producir nuevos virus. La Ribonucleasa elimina la cadena molde ARN de la primera cadena de ADN para permitir la síntesis de la cadena de ADN complementaria. La Integrasa es la enzima que acopla el ADN viral en el cromosoma de la célula.

El gen *env* expresa a la glicoproteína Env (gp160), la cual se separa en las unidades gp120 y gp41 durante el transporte a la superficie de la célula infectada. Estas proteínas de superficie se unen a los receptores de la célula para fusionarse con su membrana y permitir que el genoma del virus se libere al interior e inicie la producción de nuevos virus. Una de las regiones de gp120 interacciona con los co-receptores celulares CXCR4 y CCR5 que determinan la sensibilidad de ciertas líneas celulares a las cepas virales, así como su tropismo a los linfocitos TCD4+ y macrófagos. La glicoproteína gp120 también interacciona con las células dendríticas para hacer más eficiente la infección de los TCD4+ y se sabe que puede facilitar la transmisión por las mucosas (Gessani & Belardelli, 2007; Wood et al., 2013)

El principal receptor celular para el VIH es la molécula de superficie celular. No obstante, a diferencia de otros retrovirus, se requiere de un correceptor. El virus emplea receptores de quimiocinas que dependen de la cepa de VIH. Los virus M- trópicos utilizan un correceptor CCR5, mientras que los T- trópicos un receptor CXCR4. La variación en la secuencia en los receptores de quimiocinas del hospedero puede influir en la rapidez del establecimiento de la infección y la progresión del síndrome de inmunodeficiencia posterior a la infección por VIH-1 (Fanales-Belasio et al., 2010; Rodger et al., 2011).

Patogenia

La infección por VIH es una enfermedad causada por el virus de la inmunodeficiencia humana, cuyo blanco principal es el sistema inmune al cual deteriora de forma gradual e

irreversible y cuya expresión clínica final es el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) (Secretaría de Salud, 2008). La Organización Mundial de Salud menciona que la infección primaria por VIH se presenta en niños, adolescentes y adultos, puede ser asintomática o asociarse a un síndrome antirretroviral agudo de severidad variable (World Health Organization, 2007). La infección primaria se presenta con enfermedad febril aguda de 1 a 4 semanas posteriores a la exposición, en casos frecuentes con linfadenopatía, cefalea, faringitis, erupción cutánea maculopapular, úlceras orales o genitales, candidiasis oral, diarrea y meningoencefalitis. Además, puede desarrollarse linfadenopatía transitoria intensa, que se acompaña de una disminución de los linfocitos TCD4+ (Jay A. Levy, 2007).

La infección se diagnostica en base a criterios de laboratorio mediante la aparición de anticuerpos HIV o por la identificación de los productos virales (Kassutto & Rosenberg, 2004; World Health Organization, 2007).

El principal mecanismo de transmisión es el intercambio de fluidos durante las relaciones sexuales, cuyo riesgo puede incrementarse por la asociación de otros factores tales como, las infecciones de transmisión sexual (úlceras genitales, herpes simple tipo 2 y vaginosis bacteriana), embarazo y el coito anal receptivo. En segundo término, está la vía perinatal y la lactancia materna, así como las transfusiones sanguíneas. Sin embargo, otros factores de riesgo de tipo conductual incrementan el riesgo de transmisión, tales como mantener múltiples parejas sexuales, parejas simultáneas y el compartir jeringas entre usuario de drogas intravenosas (Maartens, Celum, & Lewin, 2014; Tobin & Aldrovandi, 2013).

Existen diversos factores virales y del hospedero que determinan la variabilidad de la infección por el VIH, así como la progresión de la infección. Los principales factores que influyen en la patogénesis del VIH son: los tropismos celulares, que definen el fenotipo viral y los correceptores que determinan el ingreso del virus en los diferentes tipos de células (Naif, 2013) .

A partir de la premisa que la transmisión sexual es la vía más frecuente para la inoculación del virus, y la segunda es la vía materno- infantil, la infección inicia con la interacción del VIH con el epitelio mucoso (Hladik & McElrath, 2008; Paiardini, et al., 2008; Xu, Wang, & Veazey, 2013). Se sabe que el epitelio cervical puede atrapar viriones libres o células seminales infectadas y posteriormente cruzan el epitelio mediante diferentes mecanismos, tales como transcitosis, endocitosis y exocitosis, para originar una infección productiva y transferirse a las células dendríticas, los macrófagos y linfocitos T ayudadores (T_H) de la lámina propia que expresen el receptor $CD4^+$ (Paiardini et al., 2008; Rowland-Jones, 2003). El virus presenta tropismo celular debido a que utiliza a la glicoproteína gp120 para acoplarse al receptor $CD4$ de los linfocitos y fusionar su membrana utilizando el correceptor CC quimiocina receptora tipo 5 ($CCR5$) (Forsman & Weiss, 2008). Una gran población de células $TCD4^+ CCR5^+$ se encuentra en los sitios efectores de la mucosa, en especial en la lámina propia, mientras que una menor cantidad se encuentra en la sangre y en los nódulos linfáticos, lo cual explica por qué la reducción masiva de los linfocitos $TCD4^+$ de las mucosas no se refleja de manera significativa durante su cuantificación en sangre periférica (Grossman, Meier-Schellersheim, Paul, & Picker, 2006). Los virus con tropismo a los receptores $CCR5$ predominan en los estadios iniciales de la infección (virus R5), sin embargo algunos

subtipos virales tienen afinidad por los receptores CXCR4 (virus X4) característico de las etapas tardías de la infección.

Por otra parte, puede ocurrir un cambio en la afinidad por los receptores en el 40% de las personas infectadas, asociado a la progresión rápida de la enfermedad (Cicala, Arthos, & Fauci, 2011).

La transmisión oral del VIH ocurre de dos diferentes maneras, durante la lactancia materna de los recién nacidos y por contacto oro-genital durante las relaciones sexuales. Una vez que el VIH entra a la cavidad oral, los diferentes tejidos del tracto gastrointestinal permiten la invasión del hospedero. Ambos tipos de virus tróficos pueden invadir las células los tejidos que participan en este proceso, tales como: el epitelio escamoso estratificado queratinizado (encías) y no queratinizado (esófago y mucosa bucal), el tejido linfoide asociado a la mucosa o MALT (amígdalas) y el epitelio columnar (glándulas salivales, estómago y mucosa intestinal). Es importante mencionar que los virus en la mucosa oral de los niños pueden transportarse por transición a otros tejidos del epitelio y permanecer infecciosos hasta alcanzar a la célula blanco (Wood et al., 2013).

En teoría, la inmunoglobulina A (IgA) de la mucosa puede actuar contra el VIH de diferentes formas, tales como la neutralización directa del virus, inhibición de la actividad enzimática del VIH, inhibición de la unión a receptores o inhibición del movimiento trans-epitelial. Pese a la evidencia de que la IgA puede neutralizar e inhibir la actividad enzimática del virus, éste puede utilizar diferentes estrategias para infectar a las células humanas utilizando la ruta de las mucosas (Challacombe & Naglik, 2006). Algunos estudios en macacos han demostrado que la infección por VIH/VIS está asociada con una disminución irreversible de las células TCD4⁺ de las mucosas, de manera rápida y

agresiva (Paiardini et al., 2008), sin embargo en la fase crónica de la infección la disminución se observa en los TCD4+ del tejido linfoide asociado a mucosa.

El epitelio oral se observa más permeable y alterado durante la infección por el VIH, quizás por un aumento en la regulación de algunos receptores de la superficie celular.

Por otra parte, se ha propuesto que las infecciones con otros agentes diferentes al VIH como un factor exógeno importante que influye en la severidad y velocidad en la progresión de la enfermedad y son factores que disminuyen la supervivencia de los hospederos e incrementan la transmisión del virus (Fidel, 2006).

Diferentes agentes biológicos están asociados a la infección por VIH y producen infección concomitante, entre los cuales se encuentra el virus del herpes 6 y 8 (VHH-6, VHH-8), el virus del herpes simple (VHS-1), el virus Epstein- Barr (VEB), algunos protozoarios, tales como *Cryptosporidium parvum* e *Cystoisospora belli*; bacterias, tal como *Mycobacterium tuberculosis*, y las levaduras *Pneumocystis jirovecii* y *Candida albicans*. El efecto de la infección por el VIH puede inducir cambios en el microambiente de *Candida*, lo cual favorece la selección de especies con fenotipos y genotipos atípicos y una alteración de los factores de virulencia (Challacombe & Naglik, 2006; Fanales-Belasio et al., 2010; Jain et al., 2010).

Terapia antirretroviral

Los objetivos del tratamiento antirretroviral (TARV) son reducir la morbi-mortalidad asociada al VIH, mejorar la calidad de vida de las personas que viven con VIH, al evitar las hospitalizaciones, disminuir las infecciones por oportunistas, mantener el desarrollo

físico y la función neurocognitiva, preservar y restaurar el sistema inmune y alcanzar una carga viral indetectable (Mexico. Secretaria de Salud. Consejo Nacional para la Prevencion y Control del VIH/SIDA., 2004).

Para el tratamiento de la inmunodeficiencia por VIH se utiliza un esquema que combina Inhibidores de la Transcriptasa Inversa Análogos a Nucleósidos (ITRAN o NRTIS por sus siglas en inglés), Inhibidores de la Transcriptasa Inversa No Nucleósidos (ITRNN o NNRTIS por sus siglas en inglés), Inhibidores de Proteasa (IP) o Inhibidores de la Transferencia de Cadenas de la Integrasa (IN o INSTIS por sus siglas en inglés). Sin embargo se pueden utilizar otros antirretrovirales cuando se presenta intolerancia o resistencia (Maartens et al., 2014; Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children, s/f).

El esquema de Tratamiento Antirretroviral Altamente Activo (TARAA o HAART por sus siglas en inglés) combina tres o más antirretrovirales administrados al mismo tiempo para reducir la replicación del VIH, los cuales pueden ser los siguientes:

- a. 2 ITRAN+ 1 PI ó 1 ITRNN
- b. 1 ITRAN+ 1 IP+ 1 ITRNN

Los criterios para el inicio de la terapia incluye a los síntomas relacionados con el VIH, la edad, el conteo de los linfocitos TCD4+, la carga viral y el potencial del paciente para el apego al tratamiento (Organización Mundial de la Salud, 2013).

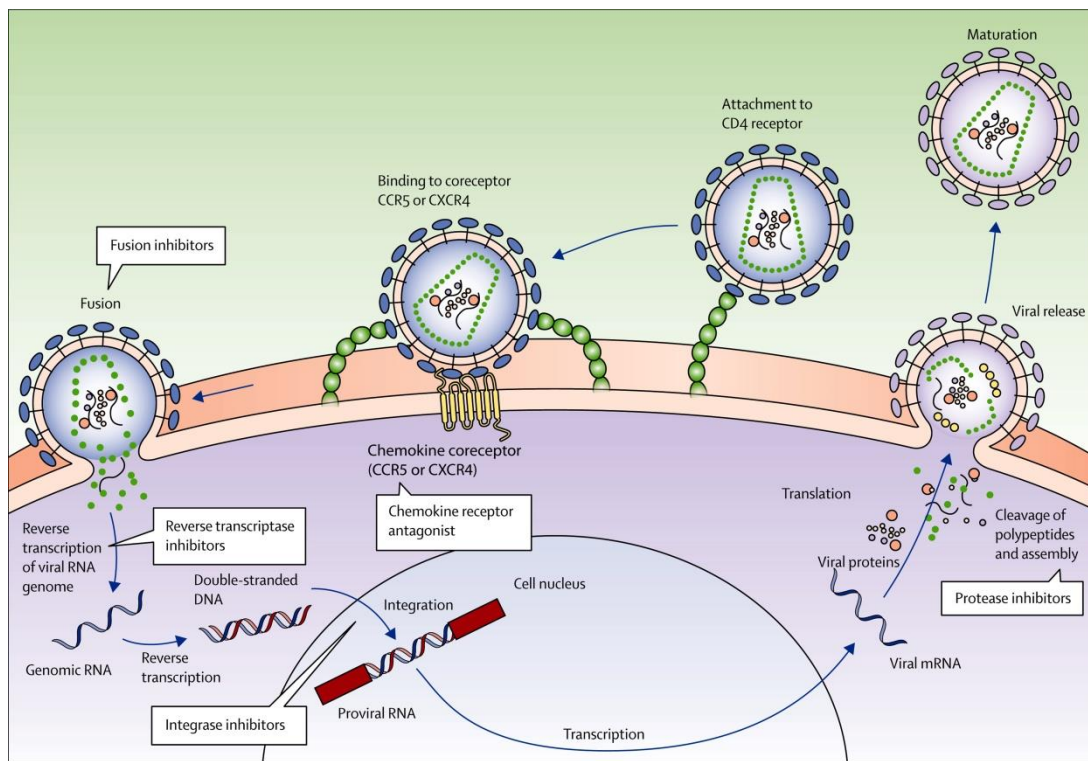


Imagen 3. Ciclo biológico del VIH, en el que se muestran los sitios de acción de los antirretrovirales. Tomado de: Maartens, Celum, & Lewin, 2014b

Manifestaciones orales del VIH

Las lesiones orales son las primeras manifestaciones de la infección por el VIH y pueden ayudar a predecir la progresión de la enfermedad y ser utilizado como criterio para la profilaxis y terapia antirretroviral. Se observan siete lesiones principales: candidiasis oral, leucoplasia vellosa, sarcoma de Kaposi, eritema gingival lineal, gingivitis ulcerativa necrosante, periodontitis ulcerativa necrosante y linfoma no Hodgkin. Incluso las dos primeras se utilizan como criterio de clasificación de la enfermedad (Coogan, Greenspan, & Challacombe, 2005).

La frecuencia de las manifestaciones orales es diferente en los niños y en los adultos. Las lesiones orofaciales asociadas a los niños son: la candidiasis oral, herpes simple, eritema gingival, agrandamiento de la parótida y ulceraciones orales. Por otra parte, las lesiones orales en adultos y menos frecuentes en niños son: sarcoma de Kaposi, linfoma no-Hodgkin y leucoplasia vellosa. Cabe destacar que la candidiasis oral es la manifestación más frecuente asociada a niños con VIH, sin embargo existe una alta prevalencia de otras enfermedades orales concomitantes, tales como caries y enfermedad periodontal (Dávila & Gil, 2011; Nagar et al., 2013).

Las manifestaciones orales del VIH están asociadas al apego al tratamiento y no a la falla del TARAA. La candidiasis oral puede ser un marcador importante en la falla virológica e inmunosupresión en pacientes bajo esquema TARAA (Cerqueira et al., 2010).

Candidiasis oral en niños y adolescentes con VIH

Las manifestaciones orales son el principal signo de la infección en los niños con VIH y su principal mecanismos de transmisión es de madre a hijo (Mofenson et al., 2005; Nagar et al., 2013). De acuerdo a la Organización Mundial de la Salud y al Departamento de Salud y Servicios Humanos de los Estados Unidos (Department of Health and Human Services, s/f), las infecciones más comunes en estos grupos de edad son las siguientes:

1. Infecciones bacterianas
2. Infecciones por *Candida*
3. Coccidioidomicosis
4. Criptococcosis

- | | |
|--|--|
| 5. Criptosporidiosis | 16. Malaria |
| 6. Infección por Citomegalovirus | 17. Microsporidiosis |
| 7. Giardiasis | 18. Enfermedad por el complejo |
| 8. Infección por virus de la Hepatitis B | <i>Mycobacterium avium</i> |
| 9. Infección por virus de la Hepatitis C | 19. Infecciones por <i>Mycobacterium</i> |
| 10. Infecciones por virus del Herpes | <i>tuberculosis</i> |
| simple | 20. Neumonía por <i>Pneumocystis</i> |
| 11. Histoplasmosis | <i>jirovecii</i> |
| 12. Enfermedad por Herpesvirus 8 | 21. Leucoencefalopatía progresiva |
| humano | multifocal |
| 13. Infección por Papilomavirus | 22. Sífilis |
| humano | 23. Toxoplasmosis |
| 14. Influenza | 24. Infección por virus Varicella-zoster |
| 15. Isosporiasis (cistoisosporiasis) | |

La manifestación más común en niños es la candidiasis oral (CO), asociada a la disminución de los linfocitos TCD4+ por debajo de las 200 células/mm³ y un aumento en la carga viral, por lo que se ha utilizado como un marcador clínico de la infección por VIH (Cerqueira et al., 2010; Gaitán-Cepeda, Martínez-González, & Ceballos-Salobreña, 2005). La candidiasis pseudomembranosa es la variante más frecuente, seguida por la candidiasis eritematosa y la quelitis angular.

Se han realizado pocos estudios acerca de la relación de la candidiasis oral y la terapia antirretroviral en niños y adolescentes, sin embargo la mayoría demuestra que existe

una disminución de las manifestaciones orales en los pacientes con esquema TARAA a diferencia de los sujetos sin tratamiento o monoterapia (Tappuni & Fleming, 2001). Es importante considerar otros factores que intervienen en el desarrollo de la candidiasis, tales como el tiempo del tratamiento, apego a la terapia, región geográfica, calidad de vida y estado nutricional (Gaitán-Cepeda et al., 2012; Pomarico et al., 2015). Por otra parte, existen pocos medicamentos antirretrovirales disponibles para su uso en niños y esto eleva los costos de tratamiento y su seguimiento. El tratamiento solo puede ser exitoso si los niños que lo reciben son apoyados para apegarse al régimen (*The Gap Report*, 2014). Otro factor que puede contribuir a la presencia de *Candida* es la lesión cariosa a nivel de dentina que favorece la colonización (Cerqueira et al., 2010). Gaitán y colaboradores mencionan dos mecanismos que explican la disminución de la candidiasis oral: la recuperación de sistema inmune y el efecto antifúngico de los ARV inhibidores de proteasa (IP), capaces de inhibir el efecto de las aspartil proteasas (Sap) que *Candida* utiliza para adherirse e invadir a las células de la mucosa (Gaitán-Cepeda, Sánchez-Vargas, & Castillo, 2014). Estudios *in vitro* demuestran que indinavir es el inhibidor de la adherencia de *Candida* con mayor potencia.

La especie más frecuente en las candidiasis orales es *Candida albicans*, sin embargo otras especies, tales como *C. tropicalis*, *C. glabrata* y *C. krusei*, se encuentran entre el 18 y 40% de los casos (Gaitán-Cepeda et al., 2014).

Tratamiento antifúngico

La terapia con antifúngicos se ha establecido utilizando criterios farmacocinéticos y farmacodinámicos. La concentración mínima inhibitoria (CMI) se ha adecuado a la

eficacia del fármaco *in vivo*, debido a que su concentración en los tejidos varía en relación a las características fisiológicas del hospedero, el metabolismo del compuesto y sus propiedades químicas. Por tal motivo, se deben considerar diferentes características del antifúngico para el tratamiento de las micosis, tales como: espectro de actividad, farmacocinética, farmacodinamia, interacciones potenciales fármaco-fármaco y su toxicidad. La relación farmacocinética/ farmacodinamia (PK/PD) asociada con la eficacia, ayuda a predecir el éxito terapéutico, orienta los niveles e intervalos de dosificación, ayuda en la evaluación de los puntos de corte de sensibilidad a los antifúngicos y limita los efectos adversos, incluyendo toxicidad y resistencia (Calderone & Clancy, 2012). Considerando que la población pediátrica tiene características fisiológicas muy diferentes a un adulto, las dosis pediátricas deben evaluarse, debido a que se ha observado que las concentraciones de los antirretrovirales varían en relación a la edad del individuo y a factores que alteran su biodisponibilidad en diferentes tejidos, tales como el peso corporal, la alimentación, concentración de proteínas plasmáticas y volumen en los órganos o tejidos. Por otra parte la PK/PD se modifica con la actividad hepática y función renal, que varía con la edad del individuo, de manera particular en los niños menores de seis meses de edad, quienes excretan con mayor rapidez los medicamentos y los metabolizan más lento a nivel hepático (L'homme et al., 2007). Apoyados en lo anterior, podríamos sugerir que la actividad antifúngica se altera debido a los mismos factores, de manera particular a nivel hepático, ya que utilizan las mismas enzimas hepáticas para metabolizarse.

Las opciones terapéuticas con compuestos con actividad antifúngica son muy limitadas si se comparan con los antibacterianos. Los medicamentos azólicos se consideran la

opción más efectiva y segura de combatir las micosis por levaduras, sin embargo se ha observado la aparición de cepas resistentes que obligan a investigar nuevas opciones en el tratamiento con antifúngicos.

Existen solo cuatro grupos de antifúngicos, clasificados de acuerdo a su estructura química: polienos, pirimidina, triazoles y equinocandinas, cuyo mecanismo de acción se describe en la tabla 1.

TABLA 1 Mecanismo de acción de los antifúngicos, clasificados por grupo farmacológico

ANTIFÚNGICO	GRUPO	MECANISMO DE ACCIÓN
Anfotericina B Nistatina	Polieno	Se enlaza al ergosterol y forma poros que afectan la estabilidad de la membrana celular.
Flucitosina	Análogo de pirimidina	Se introduce de manera activa por la membrana utilizando una citosina permeasa, se transforma en fluorouracilo por la citosina desaminasa. Los metabolitos activos del fluorouracilo interfieren con la síntesis del ADN y el ARN.
Fluconazol Itraconazol Voriconazol Posaconazol Caspofungina	Triazol	Altera la permeabilidad de la membrana mediante la inhibición del estero 14 α - dimetilasa dependiente del citocromo P450 (CYP450) y la posterior inhibición de la síntesis del ergosterol.
Micafungina Anidulafungina	Equinocandina	Inhibe la síntesis del β -1,3 glucano de la pared celular.

Adaptado de: Calderone & Clancy, 2012

La guía de tratamiento para las infecciones oportunistas en niños con VIH recomienda diferentes esquemas de antifúngicos de acuerdo al tipo de manifestación clínica por *Candida* (Mofenson et al., 2005). En la candidiasis orofaríngea no complicada se puede utilizar el tratamiento tópico con clotrimazol o polienos, tales como nistatina o anfotericina B. Existe la posibilidad de que se desarrolle resistencia a clotrimazol si el

paciente ha tenido tratamiento previo con cualquier antifúngico del grupo de los azoles y está correlacionada con la micosis refractaria. La nistatina no reporta efectos adversos, sin embargo, el sabor amargo de la presentación farmacéutica es un factor para que los pacientes no terminen el tratamiento. Es importante mencionar que la nistatina solo se encuentra en esquemas de tratamiento para las micosis orales, pero presenta baja tolerancia y se recomienda en caso de infecciones resistentes (Pappas et al., 2015; Vazquez & Sobel, 2002).

El tratamiento sistémico con azoles por vía oral, también es efectivo como tratamiento inicial de la candidiasis oral. El fluconazol vía oral es más efectivo que la suspensión de nistatina y es más fácil de administrar. La solución de itraconazol es igual de efectiva, pero menos tolerada. Las tabletas de ketoconazol son la segunda línea de terapia para la candidiasis orofaríngea, debido a que su absorción es más variable que las soluciones de fluconazol o itraconazol (Spampinato & Leonardi, 2013).

Los antifúngicos azólicos tienen menos toxicidad relativa, sin embargo, presentan interacciones con otros fármacos que se metabolizan a nivel hepático al inhibir la enzima citocromo P450. Lo anterior tener dos consecuencias: disminuir la concentración plasmática de los azoles por un incremento en el metabolismo hepático o aumentar la toxicidad del medicamento con el cual está interaccionando. Por tal motivo se recomienda evaluar el uso de este grupo de antifúngicos y la administración de antiretrovirales que puedan ocasionar interacciones.

Los efectos adversos de los azoles son las manifestaciones gastrointestinales, que incluyen la náusea y el vómito, reportados con más frecuencia para ketoconazol; otros son las erupciones cutáneas y el prurito, entre otras (Mofenson et al., 2005).

***Candida* y sus especies**

Candida es un organismo eucariota que pertenece al reino Fungi, filo Ascomycota, clase de los Sacaromicetos, orden de los Sacaromicetales y familia Debariomicetacea. El género *Candida* se integra por 200 especies aproximadamente, de las cuales 30 se consideran agentes causales de infecciones (Brandt & Lockhart, 2012).

Es un microorganismo diploide con un ciclo de vida que incluye una fase sexual (de apareamiento) y diferentes estructuras de crecimiento, la mayoría representadas *in vivo* por levaduras unicelulares e hifas pluricelulares. *C. albicans* presenta cinco morfologías celulares: levadura, pseudohifa, hifa, clamidospora y células opacas. Las especies de *Candida* no- *albicans* solo presentan la forma de levadura y pseudohifas, a excepción de *C. dubliniensis* que también forma hifas y clamidosporas. Las hifas se forman durante la transición dimórfica. Todas las formas tienen una pared celular compleja que determina la morfología del hongo y asegura su viabilidad bajo estrés osmótico. Las levaduras y las hifas expresan en su superficie diferentes combinaciones de polisacáridos (mananos, beta-glucanos y quitina), carbohidratos con actividad enzimática, así como complejos de glicoproteínas y proteínas que son reconocidos por los receptores del hospedero.

Las especies son parte de la microbiota de los animales sanos, incluyendo a los humanos. Habitan las mucosas del tracto gastrointestinal, cavidad oral y vaginal, aunque también se encuentra como un comensal en la piel. El primer contacto con éste microorganismo es durante el nacimiento, en su paso por canal vaginal o un poco después por el contacto con la piel de otras personas.

Diversas especies originan candidiasis oral y candidiasis orofaríngea, sin embargo la más frecuente es *Candida albicans*, incluso en los casos de candidiasis vaginal y candidemia. Le siguen en frecuencia otras especies causales tales como *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* y *Candida dubliniensis* (Cassone & Cauda, 2012).

Mecanismo de patogenia de *Candida* y factores de virulencia

La capacidad de las especies de *Candida* para colonizar, penetrar y dañar los tejidos del hospedero depende de los factores de virulencia del microorganismo y el sistema inmune del hospedero. Se han identificado diversos factores de virulencia que contribuyen a la patogénesis de *Candida* para producir infecciones en la mucosa, tales como el cambio de fenotipo, la formación de biopelículas, adhesión a la mucosa, desarrollo de hifas, mimetismo molecular con las integrinas de los mamíferos y secreción de enzimas hidrolíticas.

Las levaduras que generan colonias blancas típicas en medio sólido también pueden experimentar una transición espontánea a células ligeramente alargadas, que producen

colonias de característica opaca. Esta transición “blanca- opaca” es un fenómeno único, esencial para el apareamiento de hongo y la consumación de un ciclo parasexual, durante el cual las células diploides competentes sexuales se aparean y producen células tetraploides, que regresan a la diploidía por la pérdida de sus cromosomas. La N-acetil-D-glucosamina es un inductor de la formación de hifas en *C. albicans* y también estimula la transición “blanca- opaca” y la formación de biopelículas y por lo tanto en la está relacionada a su condición de comensal o patógeno. La transición “blanca- opaca” tiene implicaciones en la patogenicidad de *C. albicans*, debido a que influye en la adherencia a las mucosas y la formación de biopelículas utilizando el mecanismo de autoinducción (P. Sudbery, Gow, & Berman, 2004). Se sabe que las células opacas colonizan la piel con mayor rapidez y producen cavitaciones en su superficie. Por otra parte las células opacas pierden capacidad de atraer a los linfocitos polimorfonucleares (PMN) y evaden al sistema inmune como un mecanismo para proteger de la fagocitosis a las células competentes para el apareamiento (Soll, 2014).

Las levaduras de *Candida* se mantienen inhabilitadas por el sistema inmune innato y adaptativo, sin embargo las hifas tienen una gran capacidad de adherencia a las células epiteliales para formar una biopelícula resistente a los antifúngicos, así como a la fagocitosis y además tienen capacidad de invadir el tejido epitelial. La entrada en la barrera epitelial se realiza por endocitosis o por penetración activa, lo que ocasiona daño mecánico del epitelio o por la acción de sus factores de virulencia.

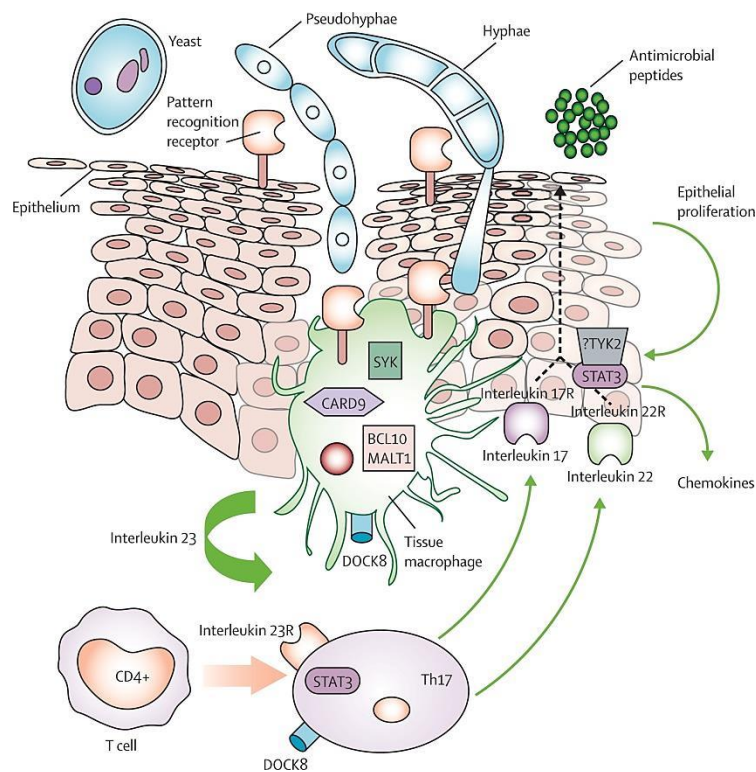


Imagen 4. Candidiasis mucocutánea. Invasión del epitelio y receptores de reconocimiento para la inducción de los linfocitos TCD4 y Th17.
Tomado de: Vinh, 2011

Las principales enzimas hidrolíticas extracelulares producidas por la levadura son las aspartil proteinasas secretadas, la fosfolipasa B y las lipasas. El factor de virulencia más estudiado es la familia de proteínas aspartil proteinasa secretadas (Sap), constituida por diez enzimas (Sap 1 a Sap 10), con diferentes funciones redundantes en la biología del hongo. Cada Sap se expresa con diferente cinética durante la infección y puede impactar de distinta manera en el mecanismo de patogenia, pero su acción más importante es actuar como enzima proteolítica durante la invasión de los tejidos (Naglik, Challacombe, & Hube, 2003). Estudios demuestran que Sap se regula durante el cambio fenotípico y se expresa en la producción de hifas y durante la adhesión a superficies (De Bernardis, Sullivan, & Cassone, 2001). Por otra parte, la

habilidad de *Candida* para adquirir hierro elemental a partir de hemolisina es esencial en su supervivencia y es un paso en su establecimiento y el desarrollo de candidiasis diseminada. La identificación de los factores de virulencia de una particular especie de *Candida* nos proporciona información acerca de los procesos patogénicos y buscar estrategias para el tratamiento de las micosis (Mane et al., 2011). Estudios recientes demuestran que existe una selección de especies no- *albicans* bajo condiciones de estrés, las cuales presentan determinantes de virulencia alterados que permiten la invasión de los tejidos y su diseminación (Mane et al., 2012). Tal es el caso de las personas que viven con VIH, quienes presentan una mayor colonización por *Candida*, comparados con las personas sin la infección (Jain et al., 2010) debido a factores que favorecen la adhesión del hongo a las superficies de las mucosas (dos Santos, 2010; Fidel, 2006; Leito et al., 2009).

Sweet y cols en 1995 proponen en su estudio con cepas aisladas de pacientes con VIH que las levaduras están seleccionadas para reemplazar a las comensales, y es factible que el proceso se relacione a la selección de cepas con determinantes de virulencia alterados que propician la colonización y por lo tanto tienen mayor capacidad de infectar a hospederos inmunocomprometidos. Durante el estudio encontraron una relación entre la adhesión de *Candida* y el nivel hormonal de los sujetos de muestra (Sweet, Cookson, & Challacombe, 1995). En un estudio posterior Pereiro y cols (1997) compararon la adherencia de *Candida albicans* aislada de pacientes con VIH y pacientes sin VIH, en el que observaron que existe menos adherencia en las levaduras de pacientes al inicio del síndrome, comparado con las levaduras aisladas de pacientes sin la infección, debido a que los pacientes con menor hostilidad inmunológica se colonizan de variables

menos patógenas, no obstante los cambios adaptativos de las cepas de *C. albicans* incrementan su capacidad de adaptación a lo largo de la historia natural del síndrome. Algunos factores del hospedero pueden modificar la adherencia: antifúngicos, antibióticos, niveles séricos de hierro o glucosa y cambios en la composición de la flora comensal. Además encontraron que la adherencia es inversa al índice de CD4/CD8, por la selección de cepas con alto potencial patógeno debido al tratamiento periódico con antifúngicos (Pereiro, Losada, & Toribio, 1997).

Tsang y Samaranayake (1999) también encontraron diversas variables asociadas con un incremento en la adherencia de *C. albicans* a las células epiteliales de pacientes con VIH, tales como uso de zidovudina, antibacterianos y antiparasitarios; mientras que la hemofilia, el incremento de la edad, los niveles bajos de TCD4+ y el uso de folatos, disminuyen la adhesión a *Candida* (Tsang & Samaranayake, 1999).

Estudios recientes proponen que la presencia de otros microorganismos de la cavidad oral participan en la interacción de *Candida* con las células del hospedero, en especial las bacterias comensales de la microbiota bucal, tales como *Staphylococcus sp.* y *Streptococcus mutans*, las cuales se coagregan con la levadura para favorecer su adhesión a mucosas y estructuras dentales (Charone, Portela, das Chagas, de Araújo Soares, & de Araújo Castro, 2013; Maristela Barbosa Portela et al., 2012; P. E. Sudbery, 2011). Además se ha planteado que una mala regulación de la respuesta inmune es un factor importante para la adhesión de *Candida*, ya que los receptores tipo Toll- 4 (TLR4) están involucrados en proteger a la mucosa oral de la invasión por *Candida albicans* mediada por PMN (Ferwerda et al., 2009). Por otra parte, se ha demostrado que los inhibidores de proteasa (IP) disminuyen la adhesión de *C. albicans* a las células

epiteliales *in vitro*, sin embargo no son capaces de modular la fagocitosis de *Candida* por los PMN. La inhibición de las aspartil proteasas de *Candida* por los IP podría impedir la candidiasis oral (Bektić et al., 2001).

La proteinasa del VIH es una aspartil proteasa, con una homología similar en la secuencia de la Sap de *Candida albicans*, en específico Sap2, lo cual permite suponer que una disminución de la candidiasis oral durante las primeras etapas del síndrome en pacientes bajo esquema TARAA, se debe a la actividad anti- *Candida* de los IP vinculado con la restauración de las células TCD4+, además esto podría explicar la selección de las cepas y las diferentes especies de *Candida* que están presentes como flora comensal en los pacientes con VIH o en la candidiasis oral (Cassone & Cauda, 2012)

Mecanismos de resistencia a los antifúngicos de las especies de *Candida*

La resistencia a los antifúngicos se considera uno de los factores de mortalidad en pacientes con candidiasis invasiva. La mayoría de los casos de falla terapéutica en pacientes con micosis invasiva se debe a las condiciones de hospedero más que a la resistencia adquirida a los antifúngicos. El concepto de resistencia clínica en los pacientes con candidemia se refiere a los factores de interacción del hospedero y del agente patógeno, que afectan el resultado clínico, pero no están relacionados de manera directa a la CMI. Tal es el caso de errores de diagnóstico, disfunción renal o hepática que origina toxicidad del fármaco, dosis inadecuada, interacción farmacológica y diagnóstico tardío entre otros. Es importante destacar que una dosis inadecuada de

este grupo farmacológico o una dosis intermitente, son factores para originar resistencia a los triazoles, en especial de los que presentan baja biodisponibilidad (Brüggemann et al., 2009; White, Marr, & Bowden, 1998). Otro factor relacionado con la falla terapéutica en las especies de *Candida* es la resistencia mediada por biopelículas con un comportamiento a los antifúngicos diferente de las células planctónicas, que en comunidad son capaces de sobrevivir a concentraciones elevadas del antimicrobiano. Sin embargo, se desconoce si la resistencia *in vitro* relacionada a la formación de las biopelículas tiene implicaciones en la terapia de los pacientes (Calderone & Clancy, 2012).

El ergosterol es uno de los principales esteroides en la membrana celular de los hongos y un análogo del colesterol de los mamíferos. Los medicamentos triazólicos tienen como blanco a la lanosterol 14 α -desmetilasa, una enzima citocromo P450, producto del gen ERG11 que contiene un co-factor heme en el sitio catalítico al cual se unen los triazoles. El efecto de los triazoles es la disminución de la producción de esterol y en consecuencia una alteración en la función de la membrana celular con la posterior inactivación de otras enzimas de la membrana. El resultado final es la inhibición de los mecanismos de reproducción del hongo y no la destrucción celular, por lo tanto son considerados como fungistáticos a diferencia de la nistatina y la anfotericina B con efecto fungicida.

Varios factores celulares están asociados a la emergencia en la resistencia a éste grupo de antifúngicos, tales como: cambios en la pared celular o membrana celular que conlleva a un deficiente transporte a través de la membrana celular, alteraciones en la afinidad del blanco farmacológico Erg11p (lanosterol 14 α -desmetilasa) o en su

contenido intracelular debido a mutaciones puntuales o a la sobreexpresión del gen ERG11, además el eflujo de los antifúngicos por proteínas transportadoras ABC de unión a ATP tipo cassette, CDR1, CDR2 o el transportador CaMDR de la superfamilia de facilitadores mayores (Mishra et al., 2007; White et al., 2002). Por otra parte, la producción de esterol está implicada en los mecanismos de autoinducción del hongo debido a que durante su biosíntesis se produce farnesol, importante por estimular la morfogénesis de *Candida* por autoinducción (Han, Cannon, & Villas-Bôas, 2011).

El uso de la flucitosina es limitado debido a la resistencia endógena de algunas levaduras de importancia clínica y por la velocidad en la que los aislamientos crean resistencia. El ritmo al que se desarrolla una resistencia aparente a la anfotericina B no puede ser cuantificado de manera efectiva, pero parece ser lento.

La anfotericina B y el fluconazol son los únicos antifúngicos que se recomiendan en monoterapia para infecciones profundas, con opción de combinarlos con flucitosina. Otros agentes activos a nivel sistémico son el itraconazol y la caspofungina. *C. glabrata*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, y *C. lusitaniae* tienen una tendencia más elevada a desarrollar resistencia a la anfotericina B, por lo que se debe prestar atención en el tratamiento de los pacientes infectados por estas especies. Entre las especies antes mencionadas, solo *C. glabrata* y *C. krusei* han aumentado su prevalencia en algunas zonas geográficas debido a su resistencia intrínseca o adquirida a los triazoles.

TABLA 2 Mecanismos de resistencia a los antifúngicos

Mecanismos moleculares	• Cambio en los esteroides de la membrana celular. • Alteraciones en el gen ERG11. • Modificación en las enzimas de la ruta de biosíntesis del ergosterol. • Incremento del eflujo del fármaco debido a proteínas transportadoras ABC (CDR) o facilitadores mayores (MDR).
Mecanismos celulares	• Resistencia intrínseca de especies de <i>Candida</i>. • Sustitución por cepas de <i>Candida</i> resistentes a antifúngicos. • Alteraciones genéticas que originan cepas resistentes a los antifúngicos. • Expresión genética transitoria que genera resistencia temporal en las células.
Factores clínicos	• Frecuencia y dosis del antifúngico. • Dosis intermitente. • Profilaxis. • Dosis acumulada. • Naturaleza fungistática de los triazoles. • Concentración mínima inhibitoria de la cepa o especie de <i>Candida</i>. • Condición inmunológica del paciente. • Otras enfermedades. • Interacciones farmacológicas. • Apego al tratamiento antifúngico.

Adaptado de: White et al., 2002

Se debe destacar que fluconazol es el medicamento que más se administra en el tratamiento de las micosis orales, del sistema genitourinario o invasivas, debido a su bajo costo y a que presenta mayor biodisponibilidad en las presentaciones orales y tópicas, sin embargo se ha comprobado su resistencia en personas con VIH en los cuales se utilizó para el tratamiento de candidiasis orofaríngea (Sanglard & Odds, 2002).

La formación de biopelículas es un factor de virulencia y un mecanismo de resistencia en las infecciones crónicas o reincidentes por *Candida*, debido a que actúa como una barrera física que protege a las células del interior de la biopelícula de la acción de los

fagocitos y del efecto de los antifúngicos. Estudios recientes demuestran que los beta glucanos de la matriz se enlazan a los triazoles, de manera particular al fluconazol (Lewis, Viale, & Kontoyiannis, 2012).

JUSTIFICACIÓN

Los mecanismos de patogenicidad de *Candida albicans* se han estudiado de manera exhaustiva en humanos y modelos animales bajo condiciones de inmunosupresión. Sin embargo, se conoce muy poco acerca de los mecanismos en especies de *Candida non-albicans*, de manera particular en niños y adolescentes con inmunosupresión, quienes presentan un escenario fisiológico diferente al adulto.

La relación de *Candida* con su hospedero se modifica como una respuesta a los mecanismos de defensa específicos y no específicos alterados debido a la inmunosupresión. Como consecuencia del estrés, las células de *Candida* tienen la habilidad de adaptarse a su ambiente para sobrellevar las condiciones adversas, promoviendo la adhesión y colonización de las mucosas, así como la activación de mecanismos de regulación genética relacionados con sus factores de virulencia. De manera semejante, la modificación del medio ambiente oral debido a los efectos adversos de los antirretrovirales sobre la mucosa oral, es un factor determinante para el desarrollo de la candidiasis (Diz Dios & Scully, 2014; Nacher et al., 2007; Navazesh et al., 2009).

Por otra parte, la terapia con antifúngicos también ocasiona estrés celular y una modificación en el comportamiento de la levadura para adaptarse a su medio. Algunos estudios indican que se ha incrementado la prevalencia de las especies diferentes a *Candida albicans*, debido a los mecanismos de selección por la acción de los antifúngicos y el incremento en la resistencia, de manera específica del grupo de los azoles.

Por lo anterior mencionado, sería importante investigar los efectos de la terapia antirretroviral en la mucosa oral de los niños y adolescentes con VIH, así como los factores que intervienen en los mecanismos de patogenicidad de las especies de *Candida* en este grupo de sujetos.

Con esta investigación se pretende tener un fundamento científico acerca de la prevalencia de otras especies de *Candida* y su resistencia a los antifúngicos convencionales, asociados a la terapia antirretroviral y las características clínicas de niños y adolescentes con VIH en una muestra poblacional.

OBJETIVO

Identificar los factores asociados a la colonización por *Candida*, candidiasis oral y la respuesta a los antifúngicos, en niños y adolescentes con VIH institucionalizados en la ciudad de Tijuana, México.

Objetivos específicos:

1. Aislar las especies de *Candida* de muestras de cavidad oral de niños y adolescentes con VIH, con manifestaciones clínicas de la infección o sin ellas.
2. Identificar las especies de *Candida* utilizando sus características fenotípicas.
3. Evaluar los patrones de sensibilidad a los antifúngicos y su relación con las especies de *Candida* aisladas de la mucosa oral de niños y adolescentes con VIH.
4. Identificar los factores asociados a las manifestaciones orales por *Candida* y la presencia de especies en la mucosa oral de niños y adolescentes con VIH.

5. Determinar la probabilidad de que se presenten las manifestaciones orales por VIH en la población niños y adolescentes con VIH del orfanato, ocasionadas por un factor de exposición.

DISEÑO METODOLÓGICO

Tipo de estudio: Estudio transversal, observacional de tipo analítico.

Población: Niños y adolescentes con VIH, de 3 a 18 años de edad, huérfanos o vulnerables a causa del SIDA, que viven en una casa hogar y reciben atención médica en el Hospital General de Tijuana, Baja California.

Instrumentos: Cuestionario de datos clínicos, antropométricos y terapia antirretroviral. Estadímetro y balanza para mediciones de antropometría. La carga viral se determinó por reacción en cadena de la polimerasa, tiempo real y los linfocitos TCD4+ por citometría de flujo. La identificación morfológica se realizó por cultivo y microscopía, la identificación bioquímica de levaduras, mediante pruebas de asimilación de carbohidratos y aminoácidos(auxonograma); y la sensibilidad a los antifúngicos mediante pruebas estandarizadas de dilución en pocillo, de acuerdo al CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute, por sus siglas en inglés).

Variables: Edad, sexo, terapia ARV, carga viral, cuantificación de linfocitos TCD4+, lesiones orales, especie de *Candida* aislada de la mucosa oral y sensibilidad a los antifúngicos flucitosina, anfotericina B, fluconazol, itraconazol y voriconazol.

Las variables que miden el estado inmunológico son la carga viral, indicador de falla virológica y la cuantificación de linfocitos TCD4+, indicador de falla inmunológica. Debido a que el estado inmunológico depende de la edad y el tiempo de tratamiento antirretroviral, fue necesario interpretar los valores discretos respecto de los sistemas de clasificación de la Organización Mundial de la Salud y del CDC. Los criterios se muestran en las tablas 3, 4 y 5 (Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children, s/f; U.S. Department of Health and Human Services, Health Resources and Services Administration, HIV/AIDS Bureau, 2014; World Health Organization, 2007).

TABLA 3 Criterios para la clasificación de la inmunodeficiencia asociada a VIH en niños, de acuerdo a la cuantificación de linfocitos TCD4+ en plasma (cels/ mm³)

Inmunodeficiencia asociada al VIH	<1 año	≥1 año, <6 años	≥6 años
(1) Moderada	≥1,500	≥1,000	≥500
(2) Avanzada	750–1499	500–999	200–499
(3) Severa	<750	<500	<200

Adaptado de: Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children

TABLA 4 Criterios para falla virológica en personas con VIH

	Carga viral persistente HIV RNA (copias/mL)
Supresión viral óptima	<20 to 75
Fenómeno Blips (elevación transitoria de carga viral)	<400
Falla virológica	≥200

Adaptado de: Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children., 2015

TABLA 5 Sistema de clasificación del CDC por estadio, para adolescentes y adultos con infección por Virus de la Inmunodeficiencia Humana

Cuantificación de linfocitos TCD4+	Categorías clínicas en adolescentes y adultos		
	A Asintomático, VIH agudo o linfadenopatía persistente generalizada	B* Condiciones sintomáticas, no A o C	C# Condiciones indicadoras de SIDA
(1) ≥500 células/ mm ³	A1	B1	C1
(2) 200-499 células/ mm ³	A2	B2	C2
(3) <200 células/ mm ³	A3	B3	C3

Fuente: U.S. Department of Health and Human Services, Health Resources and Services Administration, HIV/AIDS Bureau, 2014

TABLA 6 Operacionalización de las variables de estudio

VARIABLES INDEPENDIENTES	VARIABLE	TIPO	PARÁMETRO Y SU DESCRIPCIÓN
	Edad	Discreta	Años
	Grupo de edad	Rangos Ordinal	1. Niño: 1 a 10 años de edad 2. Adolescente: 10 a 19 años de edad
	Sexo	Nominal, dicotómica	1. Femenino 2. Masculino
	Linfocitos TCD4	Discreta	Cels/ μ L
	Linfocitos TCD4 asociados a inmunosupresión (Centro Nacional para la Prevención y el Control del VIH y el SIDA & Secretaría de Salud, 2017)	Rangos Ordinal	Categorías inmunológicas en pacientes pediátricos basadas en linfocitos CD4 (Cels/ μ L): 1. 1 a 6 años a. Sin evidencia de inmunosupresión $\geq 1,000$ b. Supresión moderada 500 a 999 c. Supresión grave < 500 2. ≥ 6 años a. Sin evidencia de inmunosupresión ≥ 500 b. Supresión moderada 200 a 499 c. Supresión grave < 200
	Carga viral (CV)	Discreta	copias/mL
	Falla virológica	Nominal, dicotómica	1. < 200 copias/mL 2. > 200 copias/mL
	Manifestaciones por el VIH	Nominal, politómica	1. Sin manifestaciones 2. Candidiasis oral 3. Candidiasis eritematosa 4. Candidiasis pseudomembranosa 5. Caries 6. Absceso recurrente 7. Estomatitis aftosa recurrente 8. Hepatomegalia 9. Síndrome de desgaste 10. Tuberculosis
	Estadio clínico de acuerdo a la OMS	Ordinal, politómica	Síntomas asociados a la infección por VIH: 1. Estadio 1- Asintomático 2. Estadio 2- Síntomas leves 3. Estadio 3- Síntomas avanzados
	Esquema antirretroviral (HAART)	Nominal, dicotómica	1. Con tratamiento ARV 2. Sin tratamiento ARV
	Esquema antirretroviral (HAART)	Nominal, politómica	1. 2NRTI+ 1IP 2. 3NRTI+ 1IP 3. 3NRTI+ 2IP 4. 2NRTI+ 1 NNRTI
	Esquema antirretroviral (HAART) Tiempo de terapia	Discreta	Años

	Esquema antirretroviral (HAART) por edad (World Health Organization, 2016)	Ordinal, politómica	1. Esquema < 3 años 2. Esquema 3-10 años - Esquema > 10 años
	Índice de masa corporal (IMC)	Continua	Kg/cm ²
	Percentil del IMC en niños y adolescentes	Discreta	Percentil de acuerdo al CDC
	Interpretación del percentil del IMC	Ordinal politómica	1. Bajo peso (< 5) 2. Peso saludable (5 a 85) 3. Sobrepeso (>85, <95) 4. Obeso (≥95)
	Concentración Mínima inhibitoria del antifúngico (CMI)	Nominal politómica	Concentración mínima inhibitoria (µg/mL) de: 1. Flucitosina (5FC) 2. Anfotericina B (AMB) 3. Fluconazol (FCA) 4. Itraconazol (ITR) 5. Voriconazol (VRC)
	Susceptibilidad a los antifúngicos	Nominal, dicotómica	1. Sensible 2. Resistente
	Aislamiento de <i>Candida</i>	Nominal, dicotómica	1. Cultivo positivo en agar sabouraud dextrosa a partir de muestra de mucosa oral. 2. Cultivo negativo en agar sabouraud dextrosa a partir de muestra de mucosa oral.
	Especie de <i>Candida</i>	Nominal, politómica	Nombre taxonómico de los aislamientos de <i>Candida</i> a nivel de especie
VARIABLES DEPENDIENTE	Colonización por <i>Candida</i>	Nominal, dicotómica	1. Cultivo positivo en asintomático 2. Cultivo negativo en asintomático
	Candidiasis	Nominal, dicotómica	1. Candidiasis oral con cultivo positivo 2. Sin manifestación clínica de candidiasis oral y cultivo positivo
	Manifestaciones orales	Nominal, politómica	1. Sin manifestaciones 2. Candidiasis oral: eritematosa o pseudomembranosa 3. Absceso recurrente 4. Estomatitis aftosa recurrente
	Sensibilidad a los antifúngicos	Nominal, dicotómica	1. Sensible 2. Resistente
	Concentración mínima inhibitoria de antifúngicos	Discreta	Concentración de antifúngicos en µg/mL

Análisis estadístico: Para el análisis de los datos se utilizó el paquete estadístico STATA ver. 13 (StataCorp LLC). En el estudio de asociación entre variables categóricas se utilizó la prueba exacta de Fisher (Fisher exact test) con un nivel de significancia estadística de 0.05 ($P < 0.05$) a dos colas y para variables discretas o continuas se utilizó correlación de Pearson, con correlaciones mayores a 0.85. Para estimar los factores predictores se calculó el Odds Ratio (OR) o razón de posibilidades mediante análisis de regresión exacta, con un nivel de significancia estadística de 0.05 ($P < 0.05$) y un intervalo de confianza del 95%. Las variables dicotómicas se analizaron con regresión probit con el mismo nivel de significancia e intervalo de confianza.

Aspectos bioéticos: El protocolo fue evaluado por el Comité de Bioética y el Servicio de Enseñanza del Hospital General de Tijuana y se tuvo el consentimiento informado para la toma de muestra y uso de los datos, de la cuidadora de los niños y adolescentes con VIH.

MATERIALES Y MÉTODOS

FASES:

1. Registro del proyecto y solicitud de apoyo financiero
2. Consentimiento en la casa hogar EUNIME
3. Entrevista al paciente y al cuidador para registro de datos clínicos y antropométricos.
4. Análisis de TCD4+ y carga viral en laboratorio de referencia certificado
5. Revisión bucal y toma de muestra
6. Aislamiento de las levaduras

7. Identificación taxonómica de las especies de *Candida*
8. Pruebas de sensibilidad a los antimicrobianos
9. Captura y análisis estadístico de los datos

DATOS CLÍNICOS Y ANTROPOMETRÍA

Los datos de la edad, sexo y medicamentos antirretrovirales se obtuvieron mediante la aplicación de cuestionario directo a la cuidadora de los niños y adolescentes. La antropometría se realizó a cada uno de los niños en la casa hogar utilizando estadímetro y balanza. Los datos se cotejaron en el expediente clínico del paciente. La información de duración de la terapia, carga viral y cuantificación de los linfocitos TCD4+ se obtuvo de los expedientes clínicos y resultados de laboratorio. La evaluación clínica de la cavidad oral la realizó un odontólogo durante la toma de muestra.

REVISIÓN BUCAL Y TOMA DE MUESTRA

Toma de muestra: Se revisó la cavidad oral de los niños y adolescentes con luz artificial y con ayuda de un abatelenguas, se exploró de manera minuciosa las mucosas orales de los pacientes involucrados para identificar posibles lesiones. Posteriormente, la muestra de mucosa bucal total y placa dentobacteriana se obtuvo mediante un barrido con hisopo estéril y se conservó en medio de transporte Amies sin carbón (BBL, BD Diagnostics).

Manejo de la muestra: Las muestras se manipularon utilizando los protocolos de nivel 2 de bioseguridad. Cada uno de los medios de transporte se marcó con los datos de identificación de la muestra y se transportaron en un contenedor a temperatura ambiente hasta el laboratorio de prueba, en un tiempo menor a las 2 horas.

CARGA VIRAL Y LINFOCITOS TCD4+

Los niños y adolescentes se trasladaron al laboratorio de referencia para los estudios de carga viral y cuantificación de TCD4+. Para la determinación de carga viral por reacción en cadena de la polimerasa por tiempo real, se utilizó plasma con EDTA y análisis en COBAS Ampliprep/COBAS TaqMan HIV-1 Test, v2.0 (Roche Molecular Systems, Inc.). Para la cuantificación de linfocitos TCD4+, se utilizó sangre total analizada por citometría de flujo.

AISLAMIENTO DE LAS LEVADURAS EN PLACA DE AGAR

Las muestras se inocularon en placas de agar cromogénico para *Candida* (HardyChrom *Candida*, HardyDiagnostics) y agar Sabouraud Dextrosa (BBL, BD Diagnostics), se depositó la muestra con el hisopo en una sección de la placa de agar y dispersó mediante la técnica de estría cruzada (Garcia & Isenberg, 2010). Se incubaron durante 48 horas a 37 grados centígrados. Las placas con desarrollo o sin desarrollo de colonias se incubaron otras 24 horas a 25 grados centígrados. Se seleccionaron las colonias de las placas con desarrollo positivo a las 48 y 72 horas de incubación. Las colonias en placa de agar se diferenciaron por sus características morfológicas y microscópicas.

Características morfológicas de las colonias en placa de agar cromogénico: Se identificaron de manera presuntiva de acuerdo a sus características morfológicas y producción de color. Las colonias presentan características variables y pueden observarse de brillante a opacas y de lisas a rugosas, con bordes regulares o irregulares. Se distinguen por la presencia de un compuesto cromógeno verde, violeta, rosa o azul metálico (Baumgartner, Freydiere, & Gille, 1996; “CHROMAGAR”, s/f; Odds & Bernaerts, 1994).

Características morfológicas de las colonias en placa de agar sabouraud dextrosa: Colonia de color blanco o crema, de superficie lisa, aspecto húmedo o seco. Algunas colonias pueden presentarse con aspecto rugoso o velloso (Bonifaz Trujillo, 2012; Larone, 2011).

Características de morfología microscópica: Con un aplicador de madera se tomó una porción de la colonia aislada en placa agar sabouraud dextrosa y se depositó sobre una laminilla de vidrio con colorante azul lactofenol de algodón (BlueMount, HardyDiagnostics). La mezcla se homogenizó con el aplicador de madera y se colocó un cubreobjetos para su observación con microscopio óptico. La identificación microscópica de las levaduras se realizó utilizando el objetivo de inmersión (100X). Las especies de *Candida* se identificaron de forma presuntiva al observar células levaduriformes, esféricas u ovaladas, con yemas (blastoconidias), de 2 a 9 micrómetros de diámetro (Kurtzman & Fell, 2000; Larone, 2011; “Mycology Online. National Mycology Reference Centre,” n.d.).

Cultivo axénico: En cada placa de agar con desarrollo de levaduras, se eligieron las colonias con las características distintivas de la morfología. Se utilizó el agar

cromogénico para observar los cultivos mixtos que no se lograron identificar en las placas de agar sabouraud dextrosa. Se seleccionó una colonia independiente y se tomó una porción con asa de inoculación. Se realizó aislamiento por el método de estría cruzada en placa de agar Sabouraud dextrosa con cloranfenicol (Criterion, HardyDiagnostics) y se incubó a 37 grados centígrados durante 48 horas y 25 grados centígrados durante 24 horas (Baron, 2002).

Mantenimiento de los cultivos: Las especies de *Candida* aisladas se mantuvieron en medio de cultivo durante una semana a 4 grados centígrados. Se inocularon en medio Sabouraud dextrosa recién preparado, en tubo con rosca para realizar las pruebas de identificación taxonómica y de sensibilidad a los antifúngicos.

IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE LAS ESPECIES DE CANDIDA

Se utilizó el Panel para la Identificación Rápida de Levaduras (Siemens Diagnostics, 2014) para determinar el biotipo del organismo mediante la asimilación de carbohidratos y compuestos nitrogenados.

Preparación del inóculo: Se utilizaron colonias aisladas en cultivo axénico en medio Sabouraud dextrosa con cloranfenicol de menos de 72 horas de cultivo a 25 grados centígrados. Se tomó una porción de la colonia con asa de inoculación estéril y colocó en 3 mL de agua desionizada estéril. Cada suspensión se mezcló con agitador mecánico vortex para obtener una suspensión homogénea y se estandarizó la concentración de levaduras a una densidad óptica de 600 nm (600 O.D) a una absorbancia de 1.85, en un medidor de densidad celular (Biochrom, CO 8000). Las

suspensiones se compararon con el patrón de turbidez de levaduras (BI015-18, Siemens).

Inoculación del panel: Se utilizaron paneles de 96 pocillos impregnados del sustrato. Cada panel se rotuló con el número de identificación de la muestra. Se utilizó una pipeta automática con puntas estériles para tomar 50 μ L de suspensión homogénea de levaduras, los cuales se añadieron a cada pocillo de prueba. Los paneles se incubaron durante cuatro horas a 37 grados centígrados en incubadora de convección.

Lectura de los paneles: Después de cuatro horas de incubación se agregaron dos gotas del reactivo de peptidasa a los pocillos de las reacciones de identificación con los sustratos aminoácido-naftilamida. Se interpretaron positivas las reacciones que presentaron color rosa a rojo antes de tres minutos. Para las reacciones de los sustratos de nitrofenilo se agregó a los pocillos una gota de NaOH 0.05N. La aparición de un color amarillo o marrón antes de cinco minutos indicó una prueba positiva. La utilización de sacarosa o trealosa se observó como un cambio de color púrpura a amarillo por el cambio de pH en el pocillo. La prueba de inoxidil fosfato se interpreta positiva al observar un precipitado de azul índigo. La escisión de la urea produce amoníaco y el aumento de pH se observa por un cambio de color de amarillo a rojo.

Interpretación de resultados: Cada una de las lecturas de los pocillos se capturó en el sistema Microscan de bases de datos (Siemens), que descifra a las especies mediante un análisis de probabilidades ("MicroScan Biotype Lookup Program", s/f).

SENSIBILIDAD A LOS ANTIFÚNGICOS

Para determinar la sensibilidad a los antifúngicos anfotericina B, fluconazol, itraconazol, voriconazol y flucitosina, se utilizó la galería ATB Fungus 3 de Biomeriux, de acuerdo a las recomendaciones del EUCAST (Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST): et al., 2003) y del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012, 2016) con cepas de referencia *Candida albicans* ATCC® 90028, *Candida parapsilosis* ATCC® 22019 y *Candida krusei* (*Issatchenkia orientalis*) ATCC® 6258.

Preparación del inóculo: Los inóculos se prepararon a partir del cultivo axénico de las levaduras en medio sabouraud dextrosa, para lo cual se tomó una porción de la colonia y se homogenizó en solución de NaCl al 0.85%, hasta obtener una solución equivalente al patrón 2 de McFarland (600 O.D, absorbancia de 0.451).

Inoculación de la galería: Con una pipeta automática, se transfirieron 20 µL de la suspensión a una ampolleta con medio ATB F2 (Biomeriux). La mezcla se homogenizó con la pipeta para evitar la formación de burbujas. A continuación, se inoculó la galería, distribuyendo en cada cúpula 135 µL de la suspensión en medio ATB F2 (aproximadamente 3×10^4 UFC/ mL), al final se colocó la tapa de galería y se incubó durante 24 horas a 37 grados centígrados en cámara húmeda.

Lectura de la galería: Se verificó el desarrollo de las levaduras en las cúpulas control, si el desarrollo se observó nulo o insuficiente, se incubaron otras 24 horas a 37 grados centígrados en cámara húmeda. En las cúpulas con desarrollo suficiente se realizó la lectura visual de cada una utilizando un fondo oscuro y espejo magnificante con luz.

Se registró el resultado comparando las cúpulas de prueba contra las cúpulas control, de acuerdo con la tabla recomendada por el fabricante (tabla 7):

TABLA 7 Interpretación de los pozos de la galería ATB para determinar la sensibilidad a los antifúngicos

Desarrollo	Valor
Ausencia de reducción del desarrollo	4
Ligera reducción de desarrollo	3
Marcada reducción de desarrollo	2
Desarrollo muy débil	1
Ausencia de desarrollo	0

Fuente: Procedimiento 13363-D-14204 Biomeriux
ATB fungus 3

Se determinaron las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) de los antifúngicos, considerando el fenómeno de crecimiento residual (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2016; Rex, 2008), así como la resistencia de *Candida krusei*, intrínseca al fluconazol (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2017). Las concentraciones críticas utilizadas para determinar la CMI del antifúngico se muestran en la tabla 8. La interpretación de los puntos de corte clínicos de la CMI para FCA y VOR se estableció de acuerdo a los estándares del CLSI para las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos en levaduras, así como los puntos de corte epidemiológicos (epidemiological cut-off value- ECV por sus siglas en inglés) para 5FC, AMB e ITR, y VOR para *C. glabrata*. Los estándares del CLSI no indican puntos de corte para *C. lipolytica* (Pfaller, Castanheira, & Jones, 2012; Pfaller, Diekema, Turnidge, Castanheira, & Jones, 2019).

TABLA 8 Concentraciones críticas de antifúngicos (en µg/mL) recomendadas por la CLSI/ NCCLS para *Candida* spp.

		Especies					
		<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. kefyr</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. lipolytica</i>	<i>C. tropicalis</i>
Flucitosina (5FC)							
	ECV	≤1	≤0.5	-	≤32	-	≤1
Anfotericina B (AMB)							
	ECV	≤2	≤2	-	≤2	-	≤2
Fluconazol (FCA)							
	ECV	≤0.5	≤32	≤1	≤64	-	≤2
Puntos de corte clínicos							
	R	≥ 8	≥ 64	-	-	-	≥ 8
	S	≤2		-	-	-	≤ 2
	SDD	4	≤ 32	-	-	-	4
Itraconazol (ITR)							
	ECV	≤0.12	≤4	-	≤1	-	≤0.5
Voriconazol (VRC)							
	ECV	≤0.03	≤0.25	≤0.03	≤1	-	≤0.12
Puntos de corte clínicos							
	R	≥ 1	-	-	≥ 2	-	≥ 1
	S	≤ 0.12	-	-	≤ 0.5	-	≤ 0.12
	SDD	0.25-0.5	-	-	1	-	0.25- 0.5

S= Sensible; R= Resistente; SDD= Dosis sensible dependiente; CMI (µg/mL) ECV (puntos de corte epidemiológicos en µg/mL)

RESULTADOS

Se analizaron 30 muestras de mucosa oral de niños 20 (66.7%) y adolescentes 10 (33.3%) con VIH. Se aislaron especies de *Candida* en 15 sujetos de muestra (50%), 12 hombres (40%) y 18 mujeres (60%) con una media de edad de 8.6 ± 5.16 años (tabla 9). Solamente 23 sujetos (77%) estaban en tratamiento ARV, de los cuales el 100% bajo el esquema TARAA (tablas 10 y 11).

Los niveles de linfocitos TCD4+ tuvieron un valor promedio de 1614.13 Cels/mm³ y una desviación estándar de 1476.22 ($\bar{x} = 1614.13 \pm 1476.22$), con una varianza de 2,179,231. Los valores de dispersión de los linfocitos TCD4+ fueron muy grandes debido a que uno de los pacientes tenía niveles muy elevados de células TCD4+ (tabla 12).

TABLA 9 Características de la muestra de niños y adolescentes que viven con VIH.

Datos demográficos		
Sexo		
	<i>n</i>	%
Hombre	12	40
Mujer	18	60
Total	30	
Edad (años)		
Media ($\bar{x}$)	8.7	
Mediana ($\bar{x}$)	7	
Desviación estándar	5.5	
Varianza	31.25	
Clasificación de la edad de acuerdo a definición de la OMS.		
	<i>n</i>	%
Niño: Menor de 10 años	20	66.7
Adolescente: entre 10 y 19 años	10	33

TABLA 10 Niños y adolescentes que viven con VIH bajo tratamiento antirretroviral (TARV).

	<i>n</i>	%
Sin tratamiento	7	23.4
Con tratamiento	23	76.6

TABLA 11 Esquema Antirretroviral (TARAA) en niños y adolescentes con VIH.

	<i>n</i>	%
Sin tratamiento	7	23.4
Esquema 2INRT+ 1IP	11	36.6
Esquema 3INRT+ 1IP	1	3.3
Esquema 3INRT+ 2IP	1	3.3
Esquema 2INRT+ 1 INNRT	10	33.4

INRT= inhibidor nucleósido de retrotranscriptasa; IP= inhibidor de proteasa; INNRT= inhibidor no nucleósido de la retrotranscriptasa

TABLA 12 Niveles de Linfocitos TCD4+ (Cels/mm³) en niños y adolescentes que viven con VIH.

	<i>n</i>	30
Media ($\bar{x}$)		1,614.13
Mediana ($\tilde{x}$)		1,065.00
Desviación estándar (<i>sd</i>)		1,476.22
Varianza		2,179,231

La cuantificación de la carga viral tiene una media de 173,762.8 copias/mL, una mediana de 39 y una desviación estándar de 508,418.6 ($\bar{x}$ = 173,762.8 $\pm$ 508,418.6) y una varianza de 2.58e+11. De la misma manera que en los niveles de linfocitos TCD4+, se observó una varianza muy grande de los valores por efecto de la curtosis, lo cual se

observa de mejor manera con el valor de la mediana ($\chi \sim 50$) respecto de la media (tabla 13).

TABLA 13 Carga viral (copias/mL) en los niños y adolescentes que viven con VIH

	<i>n</i>	30
Media ($\bar{\chi}$)	152,382	
Mediana ($\chi \sim$)	39	
Desviación estándar (<i>sd</i>)	503,338.86	
Varianza	2.58e+11	

De las 30 muestras de cavidad oral, 15 fueron positivas al desarrollo de *Candida* (50%), y se aislaron 6 especies diferentes: 4 aislamientos de *Candida albicans* (27%), 5 aislamientos de *Candida glabrata* (33%), 2 de *Candida kefir* (13%), 2 de *Candida krusei* (13%), 1 de *Candida lipolytica* (7%) y 1 de *Candida tropicalis* (7%). Se aislaron 11 especies en niños (73%) y 4 especies en adolescentes (27 %). El 73% se clasificó como especies no- albicans y el 27% como especies albicans (tabla 14).

TABLA 14 Especies de *Candida* aisladas de la cavidad oral de niños y adolescentes con VIH

	Casos		Niño	Adolescente
	<i>n</i>	%	<i>n</i> = 20	<i>n</i> = 10
Niños y adolescentes positivos a <i>Candida</i>	15	50	11	4
<i>Candida albicans</i>	4	27	3	1
<i>Candida glabrata</i>	5	33	5	0
<i>Candida kefir</i>	2	13	1	1
<i>Candida krusei</i>	2	13	1	1
<i>Candida lipolytica</i>	1	7	1	0
<i>Candida tropicalis</i>	1	7	0	1
Especie albicans	4	27	3	1
Especies no- albicans	11	73	8	3

Se registraron 14 (47%) casos con manifestaciones clínicas asociadas al VIH, 11 (37%) manifestaciones orales en casos con aislamientos positivos a *Candida*, los cuales fueron: un caso (1%) de candidiasis eritematosa en lengua, 6 (20%) con candidiasis pseudomembranosa, 2 (7%) casos de caries rampante y 2 (7%) con caries. Cabe mencionar que se aislaron especies de *Candida* en 4 (13%) casos sin manifestación oral (tabla 15).

TABLA 15 Manifestaciones orales de los niños y adolescentes con VIH

	<i>n</i> = 30	%
Sin manifestaciones orales	16	53
Candidiasis eritematosa en lengua	1	3
Candidiasis pseudomembranosa	6	20
Caries	4	14
Estomatitis aftosa recurrente	2	7
Absceso recurrente	1	3

Se determinó la concentración inhibitoria para los antibióticos y se interpretaron los puntos de corte clínicos de (CMI) y los cortes epidemiológicos (ECV) para cada uno de los aislamientos. Se establecieron los patrones de sensibilidad a cinco antimicóticos utilizando el panel ATB Fungus 3 de Biomeriux, de acuerdo al método de referencia para levaduras M27-A3, que evalúa la sensibilidad a los antifúngicos por el método de dilución en caldo, publicado por el Clinical Laboratory Science Institute de los Estados Unidos (CLSI por sus siglas en inglés).

TABLA 16 Actividad antifúngica en las especies de *Candida* aisladas de la mucosa oral de niños y adolescentes con VIH institucionalizados.

	CMI (µg/mL)												p
	n=15	0.125	≤0.25	0.5	1	≤2	≤4	8	16	32	≤64	128	
Flucitosina													0.029
<i>C. albicans</i>	4						3			1			
<i>C. glabrata</i>	5						5						
<i>C. kefyr</i>	2						2						
<i>C. krusei</i>	2									2			
<i>C. lipolytica</i>	1									1			
<i>C. tropicalis</i>	1						1						
Anfotericina B													0.380
<i>C. albicans</i>	4					1		1	2				
<i>C. glabrata</i>	5					3	1		1				
<i>C. kefyr</i>	2								2				
<i>C. krusei</i>	2					2							
<i>C. lipolytica</i>	1						1						
<i>C. tropicalis</i>	1					1							
Fluconazol													0.015
<i>C. albicans</i>	4											4	
<i>C. glabrata</i>	5						1	1			3		
<i>C. kefyr</i>	2							1			1		
<i>C. krusei</i>	2									1	1		
<i>C. lipolytica</i>	1						1						
<i>C. tropicalis</i>	1										1		
Itraconazol													0.322
<i>C. albicans</i>	4					2	2						
<i>C. glabrata</i>	5		1		1	1	2						
<i>C. kefyr</i>	2		2										
<i>C. krusei</i>	2		2										
<i>C. lipolytica</i>	1		1										
<i>C. tropicalis</i>	1						1						
Voriconazol													0.055
<i>C. albicans</i>	4			1			1	2					
<i>C. glabrata</i>	5			3			2						
<i>C. kefyr</i>	2	1					1						
<i>C. krusei</i>	2		2										
<i>C. lipolytica</i>	1	1											
<i>C. tropicalis</i>	1							1					

CMI= concentración mínima inhibitoria; 5FC= flucitosina; AMB= anfotericina B; FCA= fluconazol; ITR= itraconazol; VOR= voriconazol; p= nivel de significancia estadística de 0.05

Factores asociados a los aislamientos positivos de especies de *Candida*

Se encontraron diferencias entre la carga viral ($p=0.048$) y la concentración de linfocitos TCD4 ($p=0.023$) y los resultados del cultivo de *Candida*. El 50% de los casos se encuentran en sujetos con carga viral promedio de 334,978.3, con una amplia desviación estándar de 690,942 copias/mL, esto debido a que más del 50% de los individuos con VIH tienen cargas virales por debajo de las 39 copias/mL, se observó que solo uno de los casos con CV mayor a las 200 copias/mL fue negativo al cultivo para aislar *Candida* ($p=0.04$). En su mayoría, los cultivos resultaron negativos al aislamiento de especies de *Candida* cuando la CV es menor a las 200 copias/mL. También se observaron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de linfocitos TCD4 y los resultados del cultivo ($p=0.023$), en donde el 50% de las especies de *Candida* se aislaron en muestras con concentraciones de TCD4 mayores a 1065 Cels/ μ L. De la misma manera, se observó una relación significativa entre los aislamientos positivos y la concentración de linfocitos TCD4 asociados a inmunosupresión grave en niños de 1 a 6 años de edad ($p=0.015$), en donde todos los casos con concentraciones menores de 500 Cels/ μ L fueron aislamientos positivos. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el resultado de los aislamientos y los grupos de edad y el sexo.

Por otra parte, se observaron relaciones estadísticamente significativas entre las manifestaciones por el VIH y los resultados del cultivo, en donde se determinó que en 12 (40%) de los casos sin manifestaciones por el VIH fueron negativos al cultivo de *Candida* ($p=0.025$), los 7 (23.3%) casos con manifestaciones de candidiasis oral fueron positivos al cultivo de *Candida* ($p=0.006$), así como los 5 (16.67%) casos de

hepatomegalia ($p=0.045$). La manifestación de candidiasis más frecuente es la pseudomembranosa con 6 casos (20%) con cultivos positivos ($p=0.009$).

Los estadios clínicos se clasificaron de acuerdo a los criterios de la Organización Mundial de la Salud (Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of Children Living with HIV, 2017; World Health Organization, 2016; World Health Organization, World Health Organization, & Department of HIV/AIDS, 2010) y se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los cultivos positivos y el estadio clínico 3 ($p=0.002$).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre el tratamiento ARV y los aislamientos de *Candida* a partir de las muestras de mucosa oral ($p>0.05$).

En contraste, se encontró una relación entre los casos positivos al cultivo, el índice de masa corporal (IMC) y sus percentiles ($p=0.045$, $p=0.001$).

Factores asociados a la colonización de especies de *Candida* y candidiasis

Se establecieron diferencias entre los casos de colonización por *Candida* y la candidiasis como manifestación oral por el VIH.

Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre la colonización y la edad de los pacientes ($p=0.005$), los cuales presentan candidiasis en edad promedio de 10.8 ± 8.5 años y los casos con candidiasis presentan un patrón de distribución normal ($p50=7.5$ años) para la edad de 7.5 ± 3.1 años. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los niños y los adolescentes.

También se observaron diferencias entre el sexo de los sujetos y los casos de candidiasis y colonización ($p=0.007$), en donde la totalidad de los hombres presentaron

colonización por *Candida* sin la manifestación oral (40%) y las mujeres presentan en su mayoría candidiasis (46.6%).

TABLA 17 Características demográficas, marcadores paraclínicos, estado inmunológico y tratamiento antirretroviral de una muestra de niños y adolescentes mexicanos VIH+ respecto del cultivo positivo de *Candida* oral.

		Total n=30	Cultivo de <i>Candida</i>		p	OR (IC 95%) p<0.05
			Negativo n=15 (%)	Positivo n=15 (%)		
Género	Masculino	n= 12	6 (20)	6 (20)	ns	
	Femenino	n= 18	9 (30)	9 (30)		
Promedio de edad; ± (años)		8,7 ± 5,5	8,8 ± 6,1	8,6 ± 5,1	ns	
Grupo de edad	Niños	20	9 (30)	11 (37)	ns	
	Adolescentes	10	6 (20)	4 (13)		
Índice de Masa Corporal; ± (Kg/m ²)		17,13 ± 2,76	17,76 ± 3	16,50 ± 2,44	0.04	
Percentil del IMC; ±		41,06 ± 25,15	53,2 ± 27,77	28,93 ± 14,95	0.001	0.95 (0.90- 0.98)
Promedio de carga viral; ± (copias de RNA-VIH-1/ml)		173762,8 ± 508418,6	12547,33 ± 48454,25	334978,3 ± 690942	0.04	
Grupo de carga viral	<200 copias/mL	23 (77)	14 (47)	9 (30)	ns	
	>200 copias/mL	7 (23)	1 (3)	6 (20)		
Conteo de linfocitos TCD4+; ± (cels/ml)		1614,13 ± 1476,2	2008,93 ± 1545,52	1219,33 ± 1338,45	0.02	
Estado de inmunosupresión avanzada	≤ 6 años edad (Linfocitos TCD4+ <500 cels/μL)	5 (42)	0	5 (42)	0.01	4,23 (1,29- +Inf)
	>6 años edad, (Linfocitos TCD4+ 200- 349 cels/μL)	1 (5,6)	1 (5,6)	0	ns	
Estadio clínico	Estadio clínico 1	18 (60)	12 (40)	6 (20)	ns	19,72 (2,58- +inf)
	Estadio clínico 2	4 (13)	3 (10)	1 (3)	ns	
	Estadio clínico 3	8 (27)	0	8 (27)	0.002	
Esquema ARV	2INRT+ 1IP	11 (36)	7 (23)	4 (13)	ns	
	2INRT+ 1 INNRT	10 (34)	2 (7)	8 (27)	0.05	
	Sin tratamiento	7 (24)	5 (17)	2 (7)	ns	
Tiempo de terapia; ± (años)		3,56 ± 2,66	3,06 ± 2,57	4,06 ± 2,73	ns	

p= nivel de significancia estadística de 0.05; OR= razón de posibilidades; IC= intervalo de confianza; %= frecuencia relativa; ±= desviación estándar; ns= no significativo; ARV= antirretrovirales; INRT= inhibidor no nucleósido de retrotranscriptasa; IP= inhibidor de proteasa; INNRT= inhibidor no nucleósido de la retrotranscriptasa.

Es importante señalar que se determinó la diferencia entre los niveles de linfocitos TCD4 entre hombres y mujeres, en donde se encontró diferencias estadísticamente significativas ($p=0.007$), las mujeres presentan una amplia dispersión de los linfocitos TCD4 ($1,788.5 \pm 1,592.5$) con una mediana de 1,065 Cels/ μL y los hombres presentan valores de linfocitos más cercanos a la media, con dos casos por arriba de la tercera desviación estándar ($1,352.5 \pm 1,304.4$) y una mediana de 921.5 Cels/ μL . No obstante que en los hombres es más prevalente la colonización y en las mujeres la candidiasis no se establece una relación del sexo con la concentración de linfocitos asociados a inmunosupresión ($p>0.4$), lo que podría implicar que la candidiasis no está asociada a los niveles de linfocitos TCD4 en hombres y mujeres.

Se destacan las diferencias entre la carga viral y la manifestación oral ($p=0.004$), con el 53% de casos de colonización en CV menores a 200 copias/mL ($p=0.001$) y el total de casos de candidiasis (40%) en CV mayores a las 200 copias/mL.

Se observó que el 40% de los casos con estadio clínico 3 presentaron colonización por especies de *Candida* ($p=0.041$), contrario a lo que se esperaba, ya que la manifestación por candidiasis oral es un criterio para la estadificación clínica en la categoría 3 y por tal motivo podríamos esperar más casos de candidiasis que de colonización (Organización Mundial de la Salud & Organización Panamericana de la Salud, 2009a). Se determinaron diferencias significativas entre los esquemas antirretrovirales y la colonización por *Candida* ($p=0.014$), en especial con el esquema que incluye al inhibidor no nucleósido de la transcriptasa reversa 2NRTI +1NNRTI ($p=0.041$), por otra parte no se encontraron diferencias entre el tiempo de terapia ARV y la colonización por especies de *Candida*.

TABLA 18 Características demográficas, paraclínicas, estado inmunológico y terapia antirretroviral de un grupo de niños y adolescentes mexicanos VIH+ con cultivo oral positivo de *Candida* spp. respecto de la manifestación clínica de candidiasis.

		Todos n=15	Colonización n=8 (53%)	Candidiasis n=7 (47%)	p	OR (IC 95%) p<0.05
Género	Masculino	6 (40)	6 (40)	0	0.007	17,27 (1,81- +Inf)
	Femenino	9 (60)	2 (13)	7 (47)		
Promedio de edad; $\pm$ (años)		8,8 $\pm$ 6,2	7,5 $\pm$ 3,1	10,28 $\pm$ 8,5	0.005	1,07 (0,41-0,90)
Grupo de edad	Niños	11 (73)	7 (46)	4 (27)	ns	---
	Adolescentes	4 (27)	1 (7)	3 (20)		
Promedio de carga viral; $\pm$ (copias rna-VIH-1/mL)		334978,3 $\pm$ 690942	29,5 $\pm$ 10,15	717777 $\pm$ 890724,6	0.004	---
Infección por el VIH	<200 copias/mL	9 (60)	8 (53)	1 (7)	0.001	29,14 (2,92- +Inf)
	>200 copias/mL	6 (40)	0	6 (40)	0.001	
Promedio de Linfocitos TCD4+; $\pm$ (cels/ μ l)		1219,33 $\pm$ 1338,4	1752,37 $\pm$ 1634,8	610,14 $\pm$ 500,2	0.002	
Características antropométricas	Índice de Masa Corporal Kg/m ² ; $\pm$	16,50 $\pm$ 2,44	15,5 $\pm$ 1,65	17,65 $\pm$ 2,79	0.005	1,14 (0,02- +Inf)
	Percentil del IMC, media; $\pm$	28,93 $\pm$ 14,9	27,62 $\pm$ 17,4	30,42 $\pm$ 12,7	0.005	
Estadio clínico	Estadio clínico 1	6 (40)	6 (40)	0	0.007	1,14 (0,02- +Inf)
	Estadio clínico 2	1 (7)	0	1 (7)	ns	
	Estadio clínico 3	8 (53)	6 (40)	2 (13)		
Tratamiento ARV		13 (87)	6 (40)	7 (47)	0.014	
Esquema ARV	Sin tratamiento	2 (13)	2 (13)	0	ns	1,14 (0,02- +Inf)
	2INRT+ 1IP	4 (27)	4 (27)	0	0.077	
	3INRT+ 2IP	1 (7)	0	1 (7)		
	2INRT+ 1 INNRT	8 (53)	2 (13)	6 (40)	0.041	
Tiempo de terapia (años)	< 3 años	3 (20)	0	3 (20)	0.077	5,81 (0,53- +Inf)
	3 - 10 años	8 (53)	7 (47)	1 (6)	0.010	
	> 10 años	4 (27)	1 (6)	3 (20)	ns	

p= nivel de significancia estadística de 0.05; OR= razón de posibilidades; IC= intervalo de confianza; $\pm$ = desviación estándar; ns= no significativo; +Inf= cálculo de OR a una cola; ARV= antirretrovirales; INRT= inhibidor nucleósido de retrotranscriptasa; IP= inhibidor de proteasa; INNRT= inhibidor no nucleósido de la retrotranscriptasa; TARAA= tratamiento antirretroviral altamente activo.

Para establecer si el peso de los sujetos de estudio difiere entre los casos de candidiasis y colonización se realizó la prueba exacta de Fisher del índice de masa corporal (IMC) y de su interpretación en percentiles en niños y adolescentes, de acuerdo al CDC (Centro para el Control de y Prevención de las Enfermedades, 2015). Se observó que el IMC entre ambos casos presenta diferencias estadísticamente significativas ($p=0.005$).

TABLA 19 Regresión logística de las manifestaciones orales por el VIH y la candidiasis pseudomembranosa en niños y adolescentes con VIH.

Factor de exposición	Manifestaciones orales (n=14)		Candidiasis pseudomembranosa (n=3)	
	OR (IC 95%)	<i>p</i>	OR (IC 95%)	<i>p</i>
Edad de esquema TARAA 3-10 años	0.59 (0.10- 3,08)	0.715	0.08 (0.00- 0.67)	0.016
Falla virológica >200 copias/mL	10.36 (0.99- 550.97)	0.050	85,12 (9,10- +Inf)	0.000
Linfocitos TCD4+ asociados a inmunosupresión grave 1- 6 años de edad, <500 cels/μL	4,23 (1,29- +Inf)	0.015	2,88 (0.85- +Inf)	0.090
Linfocitos TCD4+ asociados a inmunosupresión avanzada > 6 años edad, 200- 349 cels/μL	1,11 (0- 6,98)	1,000	21,97 (2,08- +Inf)	0.009
Esquema 2INRT+ 1IP	0.14 (0.01- 0.94)	0.042	0.16 (0.0- 1,29)	0.091
Esquema 2INRT+ 1 INNRT	23,56 (2,35-1259,19)	0.002	30.87 (3,73- +Inf)	0.001
Tiempo de terapia (años)	1,51 (1,09- 2,22)	0.009	1,18 (0.82- 1,75)	0.388
Hepatomegalia	10.35 (1,25- +Inf)	0.028	9,70 (0.79- 164,91)	0.082

p = nivel de significancia estadística de 0.05; OR= razón de posibilidades; IC= intervalo de confianza; +Inf= cálculo de OR a una cola; ARV= antirretrovirales; INRT= inhibidor nucleósido de retrotranscriptasa; IP= inhibidor de proteasa; INNRT= inhibidor no nucleósido de la retrotranscriptasa; TARAA= tratamiento antirretroviral altamente activo.

No se determinaron diferencias entre las especies de *Candida* colonizantes y las presentes en la candidiasis oral ($p>0.569$), así como en la presencia de especies múltiples durante los aislamientos ($p= 0.058$)

También se calculó la independencia de la resistencia a los antifúngicos en ambos casos, en donde se observaron diferencias estadísticamente significativas en la resistencia a anfotericina B ($p=0.007$) entre las especies colonizantes (53.3%) y las infectantes (13.3%).

Se realizó un análisis de regresión logística exacta para calcular la asociación entre los factores que influyen en la presencia de especies de *Candida*, las manifestaciones y los estadios clínicos de la infección por VIH (tablas 19 y 20).

TABLA 20 Regresión múltiple de las manifestaciones orales asociadas a la infección por VIH y candidiasis oral en una muestra de niños y adolescentes mexicanos con VIH.

MANIFESTACIONES ORALES RELACIONADAS A INFECCIÓN POR VIH (n=14)	OR (IC 95%)	p
Esquema ARV	22,02 (2,83- +Inf)	0.001
Tiempo de terapia (años)	2,04 (1,17- 4,93)	0.005
Esquema INRT+ 1 INNRT	88,94 (3,86- +Inf)	0.000
Tiempo de terapia (años)	11,76 (2,70- +Inf)	0.000
CANDIDIASIS ORAL (n=7)		
Esquema ARV	2,60 (1,12- 10,96)	0.020
Tiempo de terapia (años)	1,59 (1,02- 2,65)	0.038

p= nivel de significancia estadística de 0.05; OR= razón de posibilidades; IC= intervalo de confianza; +Inf= cálculo de OR a una cola; ARV= antirretrovirales; INRT= inhibidor nucleósido de retrotranscriptasa; INNRT= inhibidor no nucleósido de la retrotranscriptasa.

Se observó una diferencia estadísticamente significativa para el estadio clínico 1 de acuerdo a la OMS, sin embargo la OR es menor de 1, lo que se puede interpretar como un factor protector para la colonización por *Candida* a diferencia de los otros estadios. Además, se observó una relación significativa en los esquemas ARV recomendados niños de 3 a 10 años, de acuerdo a las guías de tratamiento (3TC / AZT+ LPV/r, ABC+ LPV/r+ 3TC / AZT, EFV + 3TC / AZT) con un efecto protector para la colonización en este grupo.

Patrones de susceptibilidad a antifúngicos de las especies aisladas

Se observaron diferencias estadísticamente significativas en la susceptibilidad a 5-fluoritosina de las especies de *Candida* aisladas de la mucosa oral (tabla 21), en donde la mayoría presenta sensibilidad al antifúngico ($p=0.029$).

Itraconazol presenta diferencias significativas asociadas a la especie de levadura ($p=0.017$), al esquema ARV ($p=0.033$) y al tiempo de terapia ($p=0.05$).

Las 5 especies sensibles a AMB (33%) se aislaron de sujetos con candidiasis oral y las 8 especies resistentes (53%) fueron colonizantes ($p=0.007$), el 40% (6) de las especies resistentes se aislaron de sujetos en estadio clínico 1 ($p=0.049$). Se observaron diferencias en la CMI de 5FC ($p=0.029$) y FCA ($p=0.015$) entre las diferentes especies de *Candida* (Tabla 16). Las especies de no-*albicans* presentaron CMI de FCA ≤ 64 $\mu\text{g/mL}$, a diferencia de las *C. albicans*, resistentes a FCA con CMI de 128 $\mu\text{g/mL}$ ($p=0.001$).

Se observó que las especies aisladas de sujetos con mayor tiempo en terapia ARV se inhiben con concentraciones de VOR ≥ 0.25 $\mu\text{g/mL}$ ($p=0.012$), al aumentar el tiempo de terapia ARV, empiezan a aparecer especies de *Candida* resistentes a VOR.

La única especie SDD es *albicans*. Todas las especies *albicans* muestran CMI's mayores a los 0.5 µg/mL y son SDD o resistentes al voriconazol. Por otra parte, se determinó que todas las especies aisladas (13%) de sujetos sin tratamiento ARV tienen una CMI de 0.125 µg/mL ($p=0.012$), de igual manera todas las especies *C. albicans* mostraron CMI mayores a los 0.5 µg/mL y fueron sensibles dependientes de la dosis (SDD) o resistentes a VOR ($p=0.007$). Los dos casos con aislamientos de *Candida non-albicans* sin tratamiento ARV fueron sensibles a bajas concentraciones de VOR (0.125 µg/mL).

En el caso de la respuesta a los esquemas TARAA, se observó que 47% (7) de las especies resistentes a ITR se aislaron en sujetos con terapia que incluyó un INNRT ($p=0.041$).

Se apreció una diferencia entre las especies de *albicans* y no *albicans* en la CMI de fluconazol. Las especies no *albicans* muestran CMI's menores o iguales a 64 µg/mL. La totalidad de los aislamientos de especies *albicans* son resistentes con CMI's de 128 µg/mL. La correlación entre las especies de *albicans* y no *albicans* y la CMI es alta, de 0.87, con una significancia de $p=0.001$.

Tabla 21 Patrones de susceptibilidad a los antifúngicos de las especies de *Candida* aisladas de la mucosa oral y factores asociados a la sensibilidad y resistencia.

		5FC		AMB		FCA			ITR		VOR		
ESPECIE	n=15 (n%)	R 4(27)	S 11(73)	R 10(67)	S 5(33)	R 12(80)	S 1(7)	SDD 2(13)	R 9(60)	S 6(40)	R 7(47)	S 7(47)	SDD 1(6)
<i>C. albicans</i>	4(27)	1	3	3	1	4	0	0	4	0	3	0	1
<i>C. glabrata</i>	5(33)	0	5	2	3	3	0	2	4	1	2	3	0
<i>C. kefyr</i>	2(13)	0	2	2	0	2	0	0	0	2	1	1	0
<i>C. krusei</i>	2(13)	2	0	2	0	2	0	0	0	2	0	2	0
<i>C. lipolytica</i>	1(7)	1	0	1	0	0	1	0	0	1	0	1	0
<i>C. tropicalis</i>	1(7)	0	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0
p		0,029		0,474		0,285			0,017		0,319		
INFECCIÓN													
Colonizante	8(53)	2	6	8	0	7	1	0	4	4	4	4	0
Candidiasis	7(47)	2	5	2	5	5	0	2	5	2	3	3	1
p		1,0		0,007		0,323			0,608		1,0		
ESTADIO CLÍNICO													
Estadio clínico 1	6(40)	2	4	6	0	5	1	0	2	4	2	4	0
Estadio clínico 2	1(7)	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0
Estadio clínico 3	8(53)	2	6	4	4	7	0	1	7	1	5	2	1
p		1,0		0,049		0,159			0,052		0,326		
ESQUEMA ARV													
2INRT+ 1IP	4(27)	1	3	4	0	4	0	0	2	2	2	2	0
3INRT+ 1IP	0(0)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3INRT+ 2IP	1(7)	0	1	0	1	0	0	1	0	1	0	1	0
2INRT+ 1 INNRT	8(53)	2	6	4	4	7	0	1	7	1	5	2	1
Sin tratamiento	2(13)	1	1	2	0	1	1	0	0	2	0	2	0
p		1,0		0,138		0,112			0,033		0,460		

5FC= flucitosina; AMB= anfotericina B; FCA= fluconazol; ITR= itraconazol; VOR= voriconazol; S= sensible; R= resistente; SDD= sensible dependiente de la dosis; p= nivel de significancia estadística de 0,05; ARV= antirretrovirales; INRT= inhibidor nucleósido de retrotranscriptasa; INNRT= inhibidor no nucleósido de la retrotranscriptasa.

DISCUSIÓN

La aparición de infecciones ocasionadas por *Candida albicans* se ha convertido en un problema emergente relacionado a el desarrollo de enfermedades que comprometen el sistema inmune, por otra parte, el aumento en la incidencia de especies no- *albicans* es significativo en relación con la resistencia a los antifúngicos (Gaitán-Cepeda et al., 2014; Silva et al., 2012; Spampinato & Leonardi, 2013).

Esta población pediátrica institucionalizada representa una muestra homogénea por su alta adherencia a los tratamientos, llevar una dieta similar y tener vigilancia clínica, que en su condición de vulnerabilidad tienen una atención orientada a controlar la infección. Por otra parte, nos proporciona información del comportamiento de la enfermedad en la comunidad y fuera del ambiente hospitalario (Blignaut, 2007). Las especies más prevalentes fueron *C. glabrata* (33%), sucedida por *C. albicans* (27%), sin tener una relación con la colonización, la candidiasis o con las características clínicas (Cerqueira et al., 2010).

Para observar si existe una selección de cepas de *Candida* resistentes en los niños y adolescentes con VIH, se aislaron especies de muestras de la cavidad oral con manifestaciones clínicas de la infección o sin ellas (Mane et al., 2012; Redding et al., 2000; Silva et al., 2011; Thompson et al., 2010). Las especies aisladas en personas que no manifiestan signos y síntomas de la infección se consideran parte de la microbiota habitual, pero con potencial patógeno cuando el sistema inmune se encuentra comprometido (Nagar et al., 2013).

A pesar de que la mayoría de las especies se aislaron de adolescentes con VIH, no se estableció una relación significativa entre los grupos de edad y la presencia de *Candida* o su relación con alguna especie en particular. No se tiene evidencia suficiente para

establecer la asociación entre la edad y la presencia de las diferentes especies de *Candida* en la cavidad oral. La edad del hospedero tiene una relación directa con la fisiología de la cavidad oral, de manera específica con el desarrollo del sistema inmune y la presencia de linfocitos TCD4+ en las mucosas, la secreción de enzimas salivales, la regulación del pH y la producción de saliva (Alves et al., 2014; National Guideline Clearinghouse (NGC), s/f). De la misma manera, tiene una relación con los mecanismos de regulación fisiológicos que tienen efecto en la farmacocinética y la farmacodinamia de los antifúngicos y en la farmacodinamia de los antirretrovirales que pueden modificar el ambiente de la cavidad oral (L'homme et al., 2007).

Todos los hombres de esta población tuvieron especies colonizantes ($p=0,007$), la probabilidad de tener un caso de candidiasis fue más alta en las mujeres ($OR=17,27$; $IC\ 95\%=1,81- +Inf$). No obstante que la colonización es más prevalente en los hombres y la candidiasis en las mujeres, no se estableció una relación del sexo con la concentración de linfocitos asociados a inmunosupresión ($p>0,4$), lo que podría implicar que la candidiasis no estuvo asociada a los niveles de linfocitos TCD4+ en hombres y mujeres, por tal motivo el sexo podría ser una variable confusora a estudiar. Por otra parte, se observó una asociación entre los aislamientos y los valores del IMC por debajo de la media ($p\leq 0,045$), sin tener relación con la edad o bajo peso, lo cual podría estar vinculado a la madurez del sistema inmune o con los factores fisiológicos que influyen en la farmacocinética de los ARV (Foissac et al., 2011).

Todos los casos del estadio 3 resultaron positivos al cultivo de *Candida* ($OR=19,72$ $IC\ 95\%=2,58- +inf$). El 40% de las especies colonizantes se aislaron de casos en estadio clínico 3 ($p=0,041$), opuesto a lo que se esperaba, ya que la manifestación por candidiasis oral es un criterio para la estadificación clínica en la categoría 3 y por tal

motivo podríamos esperar más casos de candidiasis que de colonización (Organización Mundial de la Salud & Organización Panamericana de la Salud, 2009b).

Se encontró que las manifestaciones clínicas, características del VIH no estaban relacionadas con la edad de los sujetos de muestra. Sin embargo, se presentan menos en personas con supresión viral óptima.

No se contó con la evidencia para establecer la asociación entre la presencia de *Candida* y el tiempo de tratamiento con antirretrovirales, aunque se observó una tendencia entre la aparición de especies de *C. albicans* y *C. krusei* y el tiempo con terapia ARV. Por consiguiente, podemos sospechar que la ausencia de ciertas especies está relacionada con el tiempo en que la persona ha permanecido bajo un esquema de control de su carga viral. La ausencia de especies tiene relación con el tiempo de tratamiento antirretroviral bajo el esquema TARAA, lo cual puede ser consecuencia de la disminución de la carga viral y el aumento de los niveles de linfocitos TCD4+.

Los inhibidores de proteasa que integran algunos esquemas TARAA pueden tener influencia en la presencia *Candida* o la selección de especies, debido a la inhibición con las aspartil proteasas que se utilizan en los mecanismos de adhesión de la levadura (dos Santos, 2010; Migliorati, Birman, & Cury, 2004; Maristela B Portela et al., 2010; Taborda, Zapata-Builes, Montoya, & Rugeles, 2012), sin embargo no se encontró evidencia que demostrara que la terapia TARAA con IP influyera en la ausencia o la presencia de *Candida* en la cavidad oral.

Se encontró una relación entre las manifestaciones clínicas y la carga viral persistente que determina la supresión viral óptima, observándose que las manifestaciones están ausentes en individuos con menor carga viral. Por otra parte, las manifestaciones

clínicas no tienen relación con la especie de *Candida* en particular, pero sí con las especies no- albicans. Se encontró un menor número de especies no- albicans en los pacientes con manifestaciones clínicas.

Las lesiones orales son útiles como indicador de la progresión de la infección por VIH en los servicios de salud que carecen de pruebas para el seguimiento del estado inmunológico de los pacientes (Yengopal, Bhayat, & Coogan, 2011), en este estudio se observó que las manifestaciones orales fueron más frecuentes en casos con falla virológica ($p=0,031$), en particular la candidiasis pseudomembranosa ($p=0,009$). De manera similar a otros estudios que miden el efecto de la TARAA, se determinó un aumento de los casos de las manifestaciones orales cuando la concentración de TCD4+ disminuye y la CV aumenta por arriba de las 200 copias/mL (Cerqueira et al., 2010; Yengopal et al., 2011). No se observó diferencia en la colonización, manifestaciones orales o especies de *Candida* entre los sujetos con TARAA o sin ella, sin embargo el 57% de los casos con colonización tenían 3 años o menos con terapia ARV y se encontraban bajo un esquema TARAA de primera línea o eran naïve ($p=0,014$).

Contrario a lo reportado por otros autores que sugieren un incremento de los casos de caries debido a la actividad cariogénica de los medicamentos ARV y a la xerostomía (Oliveira et al., 2015), la prevalencia de caries fue baja y sin relación con la concentración de linfocitos TCD4+ ($p=0,22$), CV ($p=0,9$), terapia ARV ($p=0,548$) o candidiasis oral ($p=0,07$). El tiempo de terapia es un factor que influye en las manifestaciones orales de sujetos con TARAA, en específico cuando el esquema incluye a un INNRT (Nittayananta et al., 2010; Pomarico et al., 2015). En los resultados de este estudio se observa una alta posibilidad de tener manifestaciones orales en

esquemas de primera línea con INNRT (OR=23,56; IC 95%=2,35-1259,19), aunque en tratamientos de primera línea con IP se observó un efecto protector (OR= 0,14; IC 95%= 0,01- 0,94) (Cerqueira et al., 2010). Las manifestaciones orales se podrían utilizar como un indicador de falla terapéutica de los fármacos de primera línea con INNRT.

Se determinó un patrón de resistencia a FCA e ITR para *C. albicans*, y un patrón de sensibilidad a la FCA para *C. glabrata*. En este estudio se encontró resistencia a FCA en todos los aislamientos de *C. albicans* (80%) con CMI ≥ 128 $\mu\text{g/mL}$ ($p=0,001$), a diferencia de otros estudios en poblaciones mexicanas, en donde Clark-Ordóñez y cols (Clark-Ordóñez, Callejas-Negrete, Aréchiga-Carvajal, & Mouriño-Pérez, 2017) encontró especies resistentes a FCA entre el 0,8% y 3,1% y Sánchez-Vargas y cols (Sánchez-Vargas et al., 2005) en el 2,2% de los aislamientos de *C. albicans*. Se determinó que las especies no-*albicans* tienen CMI de FCA ≤ 64 $\mu\text{g/mL}$. Por otra parte, Sánchez-Vargas no reporta resistencia a AMB en especies colonizantes y Clark-Ordóñez solo en el 6% de los aislamientos. Este estudio evidenció la resistencia a AMB en la totalidad de especies colonizantes aisladas de la mucosa oral (53%).

Cabe mencionar que no se consideró la historia del tratamiento con antifúngicos para medir el efecto de la exposición que puede originar una reducción en la sensibilidad a los antifúngicos (de Paula et al., 2015; Delgado et al., 2009). De igual forma, la nistatina no se incluyó en el estudio ya que los métodos estandarizados para la evaluación de la resistencia a los antifúngicos no la incluyen como parte de los protocolos de prueba (Ghannoum & Clinical and Laboratory Standards Institute, 2012), por lo cual sería importante estudiar los patrones de resistencia en los sujetos de prueba con la finalidad de observar la presencia de cepas resistentes, debido a que nistatina es uno de los antifúngicos recomendados en el tratamiento de las micosis de la mucosa oral y vaginal.

La terapia con ARV no influyó en la presencia de especies en la mucosa oral, pero si en la colonización o en la candidiasis cuando se encontraban bajo un esquema TARAA con INNRT, de igual manera se identificaron especies resistentes a ITR (46%) en aislamientos del esquema con INNRT ($p=0,041$). Jaruratanasirikul y Sriwiryajan en el 2007, demostraron que la nevirapina en estos esquemas de tratamiento funciona como inductor de la enzima citocromo P450, que acelera el metabolismo del ITR y disminuye su concentración plasmática, por lo cual recomiendan realizar ajuste de dosis cuando se administran al mismo tiempo (Jaruratanasirikul & Sriwiryajan, 2007). Es importante considerar las interacciones farmacológicas, las reacciones adversas (xerostomía) y la farmacocinética de los medicamentos que se administren en conjunto con los ARV, debido a que el efecto se puede potenciar o reducir.

CONCLUSIONES

En esta muestra de estudio se observó que la presencia de las diferentes especies de *Candida* es independiente de la edad, sexo, esquema de terapia antirretroviral, estado inmunológico o la supresión viral, por tal motivo representan un riesgo para los pacientes con estado inmunológico comprometido, además del riesgo de infección comunitaria y la sucesión de especies resistentes a los antifúngicos.

Es importante realizar estudios de la farmacocinética y la farmacodinamia de los antifúngicos en los niños y adolescentes con VIH, debido a los factores fisiológicos del hospedero que influyen en selección de cepas resistentes a los antifúngicos, de manera especial en los antimicrobianos que son dependientes de la dosis y con mayor posibilidad de originar cepas resistentes.

Además, es necesario tener protocolos estandarizados para el aislamiento y la identificación de especies que representen un riesgo de infección y aumenten los casos de morbi-mortalidad por un mal diagnóstico. La correcta identificación y el conocimiento de los patrones de sensibilidad a los antifúngicos permitirán proponer recomendaciones profilácticas o terapéuticas que disminuyan la mortalidad en los pacientes susceptibles.

REFERENCIAS

- Alves, T. P., Simões, A. C. D. C., Soares, R. M. de A., Moreno, D. S. A., Portela, M. B., & Castro, G. F. B. de A. (2014). Salivary lactoferrin in HIV-infected children: Correlation with *Candida albicans* carriage, oral manifestations, HIV infection and its antifungal activity. *Archives of Oral Biology*, 59(8), 775–782.
<https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2014.04.010>
- Baron, E. J. (2002). *Abbreviated identification of bacteria and yeast: approved guideline*. En *National Committee for Clinical Laboratory Standards*. Wayne, Pa.: NCCLS.
- Baumgartner, C., Freydiere, A. M., & Gille, Y. (1996). Direct identification and recognition of yeast species from clinical material by using albicans ID and CHROMagar *Candida* plates. *Journal of Clinical Microbiology*, 34(2), 454–456.
- Bektić, J., Lell, C. P., Fuchs, A., Stoiber, H., Speth, C., Lass-Flörl, C., ... Würzner, R. (2001). HIV protease inhibitors attenuate adherence of *Candida albicans* to epithelial cells in vitro. *FEMS Immunology & Medical Microbiology*, 31(1), 65–71. <https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2001.tb01588.x>
- Blignaut, E. (2007). Oral candidiasis and oral yeast carriage among institutionalised South African paediatric HIV/AIDS patients. *Mycopathologia*, 163(2), 67–73.
<https://doi.org/10.1007/s11046-006-0087-9>
- Bonifaz Trujillo, J. A. (2012). *Micología médica básica*. Recuperado de <http://site.ebrary.com/id/10757986>
- Brandt, M. E., & Lockhart, S. R. (2012). Recent Taxonomic Developments with *Candida* and Other Opportunistic Yeasts. *Current Fungal Infection Reports*, 6(3), 170–177. <https://doi.org/10.1007/s12281-012-0094-x>
- Burrell, C. J., Howard, C. R., & Murphy, F. A. (2017). *Fenner and White's medical virology* (Fifth edition). Amsterdam ; Boston: Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Calderone, R. A., & Clancy, C. J. (Eds.). (2012). *Candida and candidiasis* (2nd ed). Washington, DC: American Society for Microbiology Press.

Cassone, A., & Cauda, R. (2012). Candida and candidiasis in HIV-infected patients: where commensalism, opportunistic behavior and frank pathogenicity lose their borders. *AIDS*, 26(12), 1457–1472.

<https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3283536ba8>

Centro Nacional para la Prevención y el Control del VIH y el SIDA, & Secretaria de Salud. (2017). *Guía de Manejo Antirretroviral de las Personas con VIH* (Octava edición). Recuperado de <http://www.gob.mx/censida/articulos/guia-de-manejo-antirretroviral-de-las-personas-con-vih-89591?idiom=es>

Centro para el Control de y Prevención de las Enfermedades. (2015). Índice de masa corporal o IMC: Calculadora para niños y adolescentes: metric version.

[Government]. Recuperado el 20 de marzo de 2017, de [nccd.cdc.gov website: https://nccd.cdc.gov/dnpabmi/ui/es/Calculator.aspx](https://nccd.cdc.gov/dnpabmi/ui/es/Calculator.aspx)

Cerqueira, D. F., Portela, M. B., Pomarico, L., de Araújo Soares, R. M., de Souza, I. P. R., & Castro, G. F. (2010). Oral Candida colonization and its relation with predisposing factors in HIV-infected children and their uninfected siblings in Brazil: the era of highly active antiretroviral therapy. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 39(2), 188–194. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2009.00857.x>

Challacombe, S. J., & Naglik, J. R. (2006). The Effects of HIV Infection on Oral Mucosal Immunity. *Advances in Dental Research*, 19(1), 29–35. <https://doi.org/10.1177/154407370601900107>

Charone, S., Portela, M. B., das Chagas, M. S., de Araújo Soares, R. M., & de Araújo Castro, G. F. B. (2013). Biofilm of Candida albicans from oral cavity of an HIV-infected child: challenge on enamel microhardness. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 115(4), 500–504. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2012.11.003>

CHROMAGAR. (s/f). Recuperado el 21 de marzo de 2012, de <http://www.chromagar.com/>

Cicala, C., Arthos, J., & Fauci, A. S. (2011). HIV-1 envelope, integrins and co-receptor use in mucosal transmission of HIV. *Journal of Translational Medicine*, 9(Suppl 1), S2. <https://doi.org/10.1186/1479-5876-9-S1-S2>

- Clark-Ordóñez, I., Callejas-Negrete, O. A., Aréchiga-Carvajal, E. T., & Mouriño-Pérez, R. R. (2017). *Candida* species diversity and antifungal susceptibility patterns in oral samples of HIV/AIDS patients in Baja California, Mexico. *Medical Mycology*, 55(3), 285–294. <https://doi.org/10.1093/mmy/myw069>
- Clinical and Laboratory Standards Institute (Ed.). (2012). *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts: Fourth Informational Supplement* (4th ed). En (4th ed). Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2016). *Epidemiological cutoff values for antifungal susceptibility testing* (1st ed.). Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- Clinical and Laboratory Standards Institute. (2017). *Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts*. (1st ed). Wayne, PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards.
- Coogan, M. M., Greenspan, J., & Challacombe, S. J. (2005). Oral lesions in infection with human immunodeficiency virus. *Bulletin of the World Health Organization*, 83(9), 700–706. <https://doi.org/10.1590/S0042-96862005000900016>
- Crépin, M., Lidereau, R., Chermann, J. C., Pouillart, P., Magdamenat, H., & Montagnier, L. (1984). Sequences related to mouse mammary tumor virus genome in tumor cells and lymphocytes from patients with breast cancer. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 118(1), 324–331.
- Dávila, M. E., & Gil, M. (2011). [Oral manifestations and dental caries in children exposed to human immunodeficiency virus]. *Revista De Salud Pública (Bogotá, Colombia)*, 13(5), 833–843.
- De Bernardis, F., Sullivan, P. A., & Cassone, A. (2001). Aspartyl proteinases of *Candida albicans* and their role in pathogenicity. *Medical Mycology*, 39(4), 303–313.
- de Paula, S. B., Morey, A. T., Santos, J. P., dos Santos, P. M. C., Gameiro, D. G., Kerbauy, G., ... Yamada-Ogatta, S. F. (2015). Oral *Candida* colonization in

- HIV-infected patients in Londrina-PR, Brazil: antifungal susceptibility and virulence factors. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 9(12), 1350–1359. <https://doi.org/10.3855/jidc.6970>
- Delgado, A. C. D., De Jesus Pedro, R., Aoki, F. H., Resende, M. R., Trabasso, P., Colombo, A. L., ... Moretti, M. L. (2009). Clinical and microbiological assessment of patients with a long-term diagnosis of human immunodeficiency virus infection and *Candida* oral colonization. *Clinical Microbiology and Infection*, 15(4), 364–371. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2009.02707.x>
- Department of Health and Human Services. (s/f). *Panel on Opportunistic Infections in HIV-Exposed and HIV-Infected Children. Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Exposed and HIV-Infected Children*. Recuperado de https://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/oi_guidelines_pediatrics.pdf
- Diz Dios, P., & Scully, C. (2014). Antiretroviral therapy: effects on orofacial health and health care. *Oral Diseases*, 20(2), 136–145. <https://doi.org/10.1111/odi.12093>
- dos Santos, A. L. S. (2010). HIV aspartyl protease inhibitors as promising compounds against *Candida albicans*. *World Journal of Biological Chemistry*, 1(2), 21–30. <https://doi.org/10.4331/wjbc.v1.i2.21>
- Fanales-Belasio, E., Raimondo, M., Suligoi, B., & Buttò, S. (2010). HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview. *Annali Dell'Istituto Superiore Di Sanità*, (1). https://doi.org/10.4415/ANN_10_01_02
- Ferwerda, B., Ferwerda, G., Plantinga, T. S., Willment, J. A., Van Spriel, A. B., Venselaar, H., ... others. (2009). Human dectin-1 deficiency and mucocutaneous fungal infections. *New England Journal of Medicine*, 361(18), 1760–1767.
- Fidel, P. L. (2006). *Candida*-Host Interactions in HIV Disease: Relationships in Oropharyngeal Candidiasis. *Advances in Dental Research*, 19(1), 80–84. <https://doi.org/10.1177/154407370601900116>

- Foissac, F., Blanche, S., Dollfus, C., Hirt, D., Firtion, G., Laurent, C., ... Urien, S. (2011). Population pharmacokinetics of atazanavir/ritonavir in HIV-1-infected children and adolescents. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 72(6), 940–947. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2125.2011.04035.x>
- Forsman, A., & Weiss, R. A. (2008). Why is HIV a pathogen? *Trends in Microbiology*, 16(12), 555–560. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2008.09.004>
- Gaitán-Cepeda, L. A., Martínez-González, M., & Ceballos-Salobreña, A. (2005). Oral candidosis as a clinical marker of immune failure in patients with HIV/AIDS on HAART. *AIDS Patient Care and STDs*, 19(2), 70–77. <https://doi.org/10.1089/apc.2005.19.70>
- Gaitán-Cepeda, L. A., Sánchez-Vargas, L. O., Pavia-Ruz, N., Muñoz-Hernández, R., Villegas-Ham, J., & Caballos-Salobreña, A. (2012). Oral candida in Mexican children with malnutrition, social marginalization, or HIV/AIDS. *Revista Panamericana de Salud Pública*, 31(1), 48–53. <https://doi.org/10.1590/S1020-49892012000100007>
- Gaitán-Cepeda, L. A., Sánchez-Vargas, O., & Castillo, N. (2014). Prevalence of oral candidiasis in HIV/AIDS children in highly active antiretroviral therapy–era. A literature analysis. *International Journal of STD & AIDS*, 0956462414548906. <https://doi.org/10.1177/0956462414548906>
- Gallo, R. C. (2002a). Historical essay. The early years of HIV/AIDS. *Science (New York, N.Y.)*, 298(5599), 1728–1730. (12459576).
- Gallo, R. C. (2002b). Human retroviruses after 20 years: a perspective from the past and prospects for their future control. *Immunological Reviews*, 185(1), 236–265. <https://doi.org/10.1034/j.1600-065X.2002.18520.x>
- Garcia, L. S., & Isenberg, H. D. (Eds.). (2010). *Clinical microbiology procedures handbook* (3rd ed). Washington, DC: ASM Press.
- Gessani, S., & Belardelli, F. (2007). *The Biology of Dendritic Cells and HIV Infection*. Springer Science & Business Media.

- Ghannoum, M. A., & Clinical and Laboratory Standards Institute. (2012). *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: fourth informational supplement* (Vol. 32).
- Gottlieb, M. S., Schroff, R., Schanker, H. M., Weisman, J. D., Fan, P. T., Wolf, R. A., & Saxon, A. (1981). *Pneumocystis carinii* Pneumonia and Mucosal Candidiasis in Previously Healthy Homosexual Men: Evidence of a New Acquired Cellular Immunodeficiency. *New England Journal of Medicine*, 305(24), 1425–1431. <https://doi.org/10.1056/NEJM198112103052401>
- Grossman, Z., Meier-Schellersheim, M., Paul, W. E., & Picker, L. J. (2006). Pathogenesis of HIV infection: what the virus spares is as important as what it destroys. *Nature Medicine*, 12(3), 289–295. <https://doi.org/10.1038/nm1380>
- Hladik, F., & McElrath, M. J. (2008). Setting the stage: host invasion by HIV. *Nature Reviews Immunology*, 8(6), 447–457. <https://doi.org/10.1038/nri2302>
- Hope, T., & Trono, Didier. (s/f). Structure, Expression, and Regulation of the HIV Genome. Recuperado el 12 de junio de 2015, de HIV InSite Knowledge Base website: <http://hivinsite.ucsf.edu/InSite?page=KB>
- Jain, P. A., Veerabhadru, K., Kulkarni, R., Ajantha, G., Shubhada, C., & Amruthkishan, U. (2010). Comparative study of adherence of oral *Candida albicans* isolates from HIV sero-positive individuals and HIV sero-negative individuals to human buccal epithelial cells. *Indian Journal of Pathology and Microbiology*, 53(3), 519. <https://doi.org/10.4103/0377-4929.68300>
- Jaruratanasirikul, S., & Sriwiriyan, S. (2007). Pharmacokinetic study of the interaction between itraconazole and nevirapine. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 63(5), 451–456. <https://doi.org/10.1007/s00228-007-0280-x>
- Kassutto, S., & Rosenberg, E. S. (2004). Primary HIV Type 1 Infection. *Clinical Infectious Diseases*, 38(10), 1447–1453. <https://doi.org/10.1086/420745>
- Kurtzman, C. P., & Fell, J. W. (Eds.). (2000). *The yeasts: a taxonomic study* (4th ed). Amsterdam ; New York: Elsevier.

- Larone, D. H. (2011). *Medically Important Fungi* (5th ed). Washington, DC: ASM Press.
- Leito, J. T. D., Ligtenberg, A. J. M., Nazmi, K., & Veerman, E. C. I. (2009). Identification of salivary components that induce transition of hyphae to yeast in *Candida albicans*. *FEMS Yeast Research*, 9(7), 1102–1110. <https://doi.org/10.1111/j.1567-1364.2009.00575.x>
- Levy, J.A. (1993). Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Microbiological Reviews*, 57(1), 183–289.
- Levy, Jay A. (2007). *HIV and the Pathogenesis of AIDS, Third Edition*. Recuperado de <http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555815653>
- Lewis, R. E., Viale, P., & Kontoyiannis, D. P. (2012). The potential impact of antifungal drug resistance mechanisms on the host immune response to *Candida*. *Virulence*, 3(4), 368–376.
- L'homme, R., Warris, A., Gibb, D., & Burger, D. (2007). Children with HIV are not small adults: what is different in pharmacology? *Current Opinion in HIV and AIDS*, 2(5), 405–409. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e3282ced13f>
- Maartens, G., Celum, C., & Lewin, S. R. (2014). HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. *The Lancet*, 384(9939), 258–271. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60164-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60164-1)
- Mane, A., Gaikwad, S., Bembalkar, S., & Risbud, A. (2012). Increased expression of virulence attributes in oral *Candida albicans* isolates from human immunodeficiency virus-positive individuals. *Journal of Medical Microbiology*, 61(2), 285–290. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.036269-0>
- Mane, A., Pawale, C., Gaikwad, S., Bembalkar, S., & Risbud, A. (2011). Adherence to buccal epithelial cells, enzymatic and hemolytic activities of *Candida* isolates from HIV-infected individuals. *Medical Mycology*, 49(5), 548–551. <https://doi.org/10.3109/13693786.2010.540044>
- Mehta, S. R., Chaillon, A., Gaines, T. L., Gonzalez-Zuniga, P. E., Stockman, J. K., Almanza-Reyes, H., ... Strathdee, S. A. (2018). Impact of Public Safety Policies

- on Human Immunodeficiency Virus Transmission Dynamics in Tijuana, Mexico. *Clinical Infectious Diseases*, 66(5), 758–764. <https://doi.org/10.1093/cid/cix884>
- Mexico. Secretaria de Salud. Consejo Nacional para la Prevencion y Control del VIH/SIDA. (2004). *Guia de manejo antirretroviral de las personas que viven con el VIH/SIDA*. Recuperado de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/179552/G_ARV2016_1.pdf
- MicroScan Biotype Lookup Program. (s/f). Recuperado el 28 de enero de 2015, de Biotype Lookup Program website: <https://webshop1.diagnostics.siemens.com/edbna2/ebusiness/USWebshop/products/bioTypeFinder.jsp#>
- Migliorati, C. A., Birman, E. G., & Cury, A. E. (2004). Oropharyngeal candidiasis in HIV-infected patients under treatment with protease inhibitors. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 98(3), 301–310. <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2004.05.017>
- Mishra, N., Prasad, T., Sharma, N., Payasi, A., Prasad, R., Gupta, D., & Singh, R. (2007). Pathogenicity and drug resistance in *Candida albicans* and other yeast species. *Acta Microbiologica et Immunologica Hungarica*, 54(3), 201–235. <https://doi.org/10.1556/AMicr.54.2007.3.1>
- Mofenson, L. M., Oleske, J., Serchuck, L., Van Dyke, R., & Wilfert, C. (2005). Treating Opportunistic Infections among HIV-Exposed and Infected Children: Recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 40(Supplement 1), S1–S84. <https://doi.org/10.1086/427295>
- Montagnier, L. (2002). HISTORICAL ESSAY: A History of HIV Discovery. *Science*, 298(5599), 1727–1728. <https://doi.org/10.1126/science.1079027>
- Mycology Online | NATIONAL MYCOLOGY REFERENCE CENTRE. (s/f). Recuperado el 11 de noviembre de 2013, de <http://www.mycology.adelaide.edu.au/>
- Nacher, M., Vantilcke, V., Huber, F., Mahamat, A., El Guedj, M., Randrianjohany, A., ... Couppié, P. (2007). Increased incidence of mucosal candidiasis after

- HAART initiation: a benign form of immune reconstitution disease?: *AIDS*, 21(18), 2534–2536. <https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e3282f02a3a>
- Nagar, P., Naithani, M., Rao, D. G., & Jayanna, R. (2013). Common Oral Manifestations in HIV-Positive Children. *Children*, 25(3), 188–191.
- Naglik, J. R., Challacombe, S. J., & Hube, B. (2003). Candida albicans Secreted Aspartyl Proteinases in Virulence and Pathogenesis. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 67(3), 400–428. <https://doi.org/10.1128/MMBR.67.3.400-428.2003>
- Naif, H. M. (2013). Pathogenesis of HIV infection. *Infectious Disease Reports*, 5(1S), 6. <https://doi.org/10.4081/idr.2013.s1.e6>
- National Guideline Clearinghouse (NGC). (s/f). Guidelines for the prevention and treatment of opportunistic infections among HIV-exposed and HIV-infected children. [Government]. Recuperado el 7 de septiembre de 2015, de National Guideline Clearinghouse website: <http://www.guideline.gov/content.aspx?id=47539&search=hiv+and+children>
- Navazesh, M., Mulligan, R., Karim, R., Mack, W. J., Ram, S., Seirawan, H., ... Oral Substudy of the Women's Interagency HIV Study Collaborative Study Group*. (2009). Effect of HAART on salivary gland function in the Women's Interagency HIV Study (WIHS). *Oral Diseases*, 15(1), 52–60. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2008.01456.x>
- Nittayananta, W., Talungchit, S., Jaruratanasirikul, S., Silpapojakul, K., Chayakul, P., Nilmanat, A., & Pruphetkaew, N. (2010). Effects of long-term use of HAART on oral health status of HIV-infected subjects. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, 39(5), 397–406. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2009.00875.x>
- Odds, F. C., & Bernaerts, R. (1994). CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important Candida species. *Journal of Clinical Microbiology*, 32(8), 1923–1929.

- Oliveira, C. A. G. R., Tannure, P. N., de Souza, I. P. R., Maia, L. C., Portela, M. B., & Castro, G. F. B. de A. (2015). Is dental caries experience increased in HIV-infected children and adolescents? A meta-analysis. *Acta Odontologica Scandinavica*, 73(7), 481–487. <https://doi.org/10.3109/00016357.2014.958874>
- Organización Mundial de la Salud. (2013). Directrices unificadas sobre el uso de los antirretrovirales en el tratamiento y la prevención de la infección por VIH. Recuperado el 18 de julio de 2015, de <http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/arv2013/download/es/>
- Organización Mundial de la Salud, & Organización Panamericana de la Salud. (2009a). Definición de la OMS de caso e infección por el VIH a efectos de vigilancia y revisión de la estadificación clínica y de la clasificación inmunológica de la enfermedad relacionada con el VIH en adultos y niños. Recuperado el 20 de marzo de 2017, de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=566%3A2009-definicion-oms-caso-infeccion-vih-efectos-vigilancia&catid=1425%3Apublications&Itemid=40682&lang=es
- Organización Mundial de la Salud, & Organización Panamericana de la Salud. (2009b). *Definición de la OMS de caso e infección por el VIH a efectos de vigilancia y revisión de la estadificación clínica y de la clasificación inmunológica de la enfermedad relacionada con el VIH en adultos y niños*. Recuperado de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=566%3A2009-definicion-oms-caso-infeccion-vih-efectos-vigilancia&catid=1425%3Apublications&Itemid=40682&lang=es
- Organización Panamericana de la Salud Organización Mundial de la Salud, Oficina Regional de las Américas. (2013). *Tratamiento antirretroviral bajo la lupa: un análisis de salud pública en Latinoamérica y el Caribe*. Recuperado de http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_docman&task=doc_view&gid=23711&Itemid=

Paiardini, M., Frank, I., Pandrea, I., Apetrei, C., & Silvestri, G. (2008). Mucosal immune dysfunction in AIDS pathogenesis. *AIDS Reviews*, 10(1), 36–46.

Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of Children Living with HIV. (2017). Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection. Recuperado el 17 de febrero de 2018, de Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection website: <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/pediatricguidelines.pdf>

Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children. (2015, abril). Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in HIV-1-Infected Adults and Adolescents. Recuperado el 3 de noviembre de 2015, de Virologic Failure website: <https://aidsinfo.nih.gov/guidelines/html/1/adult-and-adolescent-arv-guidelines/15/virologic-failure-and-suboptimal-immunologic-response>

Panel on Antiretroviral Therapy and Medical Management of HIV-Infected Children. (s/f). *Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Pediatric HIV Infection*. Recuperado de <http://aidsinfo.nih.gov/contentfiles/lvguidelines/pediatricguidelines.pdf>

Pappas, P. G., Kauffman, C. A., Andes, D. R., Clancy, C. J., Marr, K. A., Ostrosky-Zeichner, L., ... Sobel, J. D. (2015). Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, civ933. <https://doi.org/10.1093/cid/civ933>

Pépin, J. (2013). The origins of AIDS: from patient zero to ground zero. *Journal of Epidemiology and Community Health*, 67(6), 473–475. <https://doi.org/10.1136/jech-2012-201423>

Pereiro, M., Losada, A., & Toribio, J. (1997). Adherence of *Candida albicans* strains isolated from AIDS patients. Comparison with pathogenic yeasts isolated from patients without HIV infection. *British Journal of Dermatology*, 137(1), 76–80. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.1997.17701850.x>

Pfaller, M. A., Castanheira, M., & Jones, R. N. (2012). Advances in Antifungal Susceptibility Testing of *Candida*, 2010–2012. *Current Fungal Infection Reports*, 6(3), 141–153. <https://doi.org/10.1007/s12281-012-0092-z>

- Pfaller, M. A., Diekema, D. J., Turnidge, J. D., Castanheira, M., & Jones, R. N. (2019). Twenty Years of the SENTRY Antifungal Surveillance Program: Results for *Candida* Species From 1997–2016. *Open Forum Infectious Diseases*, 6(Suppl 1), S79–S94. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofy358>
- Pomarico, L., de Araújo Castro, G. F. B., de Souza, I. P. R., & Oliscovicz, N. F. (2015). Effect of highly active antiretroviral therapy use on oral manifestations in pediatric patients infected with HIV. *Indian Journal of Dental Research*, 26(2), 200–204. <https://doi.org/10.4103/0970-9290.159169>
- Portela, Maristela B, Souza, I. P. R., Abreu, C. M., Bertolini, M., Holandino, C., Alviano, C. S., ... Soares, R. M. A. (2010). Effect of serine-type protease of *Candida* spp. isolated from linear gingival erythema of HIV-positive children: critical factors in the colonization. *Journal of Oral Pathology & Medicine*, 39(10), 753–760. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.2010.00906.x>
- Portela, Maristela Barbosa, das Chagas, M. S., Cerqueira, D. F., de Souza, I. P. R., Souto-Padrón, T., de Araújo Soares, R. M., & de Araújo Castro, G. F. B. (2012). Differential collagenolytic activity of *Candida albicans* isolated from oral mucosa and dentinal carious lesions of HIV-infected children. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology*, 113(3), 378–383. <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2011.09.006>
- Redding, S. W., Kirkpatrick, W. R., Dib, O., Fothergill, A. W., Rinaldi, M. G., & Patterson, T. F. (2000). The epidemiology of non-*albicans* *Candida* in oropharyngeal candidiasis in HIV patients. *Special Care in Dentistry: Official Publication of the American Association of Hospital Dentists, the Academy of Dentistry for the Handicapped, and the American Society for Geriatric Dentistry*, 20(5), 178–181.
- Rex, J. H. (2008). *Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts: approved standard*. En *Clinical and Laboratory Standards Institute*. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
- Rodger, A. J., Johnson, M. A., & Mahungu, T. W. (2011). *HIV/AIDS: An Atlas of Investigation and Management*. En *Atlas: HIV*. Recuperado de

[http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=e000xww&AN=430566
&lang=es&site=ehost-live](http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=e000xww&AN=430566&lang=es&site=ehost-live)

Rowland-Jones, S. L. (2003). Timeline: AIDS pathogenesis: what have two decades of HIV research taught us? *Nature Reviews. Immunology*, 3(4), 343–348. (12669024).

Sánchez-Vargas, L. O., Ortiz-López, N. G., Villar, M., Moragues, M. D., Aguirre, J. M., Cashat-Cruz, M., ... Quindós, G. (2005). Point prevalence, microbiology and antifungal susceptibility patterns of oral *Candida* isolates colonizing or infecting Mexican HIV/AIDS patients and healthy persons. *Revista Iberoamericana de Micología*, 22(2), 83–92.

Sanglard, D., & Odds, F. C. (2002). Resistance of *Candida* species to antifungal agents: molecular mechanisms and clinical consequences. *The Lancet Infectious Diseases*, 2(2), 73–85. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(02\)00181-0](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(02)00181-0)

Secretaría de Salud. (2008). *Guía de práctica clínica para la atención del paciente por el VIH en el primer nivel de atención*. Recuperado de http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/067_GPC_InfeccionVIH/SSA_067_08_EyR.pdf

Secretaria de Salud Dirección General de Epidemiología CENSIDA, CENSIDA, & CENSIDA. (2018). *Vigilancia Epidemiológica de casos de VIH/SIDA en México Registro Nacional de Casos de SIDA, cierre de 2018* [Base de datos en Internet]. Recuperado de Secretaría de Salud website: <https://www.gob.mx/censida/documentos/epidemiologia-registro-nacional-de-casos-de-sida>

Sharp, P. M., & Hahn, B. H. (2010). The evolution of HIV-1 and the origin of AIDS. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 365(1552), 2487–2494. <https://doi.org/10.1098/rstb.2010.0031>

Silva, S., Negri, M., Henriques, M., Oliveira, R., Williams, D. W., & Azeredo, J. (2011). Adherence and biofilm formation of non-*Candida albicans* *Candida* species.

- Trends in Microbiology*, 19(5), 241–247.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.02.003>
- Silva, S., Negri, M., Henriques, M., Oliveira, R., Williams, D. W., & Azeredo, J. (2012). *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(2), 288–305. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00278.x>
- Soll, D. R. (2014). The role of phenotypic switching in the basic biology and pathogenesis of *Candida albicans*. *Journal of Oral Microbiology*, 6.
<https://doi.org/10.3402/jom.v6.22993>
- Spampinato, C., & Leonardi, D. (2013). *Candida* Infections, Causes, Targets, and Resistance Mechanisms: Traditional and Alternative Antifungal Agents. *BioMed Research International*, 2013, e204237. <https://doi.org/10.1155/2013/204237>
- Subcommittee on Antifungal Susceptibility Testing (AFST) of the ESCMID European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST):, Rodríguez-Tudela, J. L., Barchiesi, F., Bille, J., Chryssanthou, E., Cuenca-Estrella, M., ... Verweij, P. e. (2003). Method for the determination of minimum inhibitory concentration (MIC) by broth dilution of fermentative yeasts. *Clinical Microbiology and Infection*, 9(8), i–viii. <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2003.00789.x>
- Sudbery, P. E. (2011). Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nature Reviews Microbiology*, 9(10), 737–748. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2636>
- Sudbery, P., Gow, N., & Berman, J. (2004). The distinct morphogenic states of *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*, 12(7), 317–324.
<https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.05.008>
- Sweet, S. P., Cookson, S., & Challacombe, S. J. (1995). *Candida albicans* isolates from HIV-infected and AIDS patients exhibit enhanced adherence to epithelial cells. *Journal of Medical Microbiology*, 43(6), 452–457.
- Taborda, N., Zapata-Builes, W., Montoya, C., & Rugeles, M. T. (2012). Short communication: Increased expression of secretory leukocyte protease inhibitor

- in oral mucosa of Colombian HIV type 1-exposed seronegative individuals. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 28(9), 1059–1062.
<https://doi.org/10.1089/AID.2011.0151>
- Tappuni, A. R., & Fleming, G. J. P. (2001). The effect of antiretroviral therapy on the prevalence of oral manifestations in HIV-infected patients: A UK study. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology*, 92(6), 623–628. <https://doi.org/10.1067/moe.2001.118902>
- Tebit, D. M., & Arts, E. J. (2011). Tracking a century of global expansion and evolution of HIV to drive understanding and to combat disease. *The Lancet Infectious Diseases*, 11(1), 45–56. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(10\)70186-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(10)70186-9)
- The Gap Report*. (2014). Recuperado de
http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_Gap_report_en.pdf
- Thompson, G. R., Patel, P. K., Kirkpatrick, W. R., Westbrook, S. D., Berg, D., Erlandsen, J., ... Patterson, T. F. (2010). Oropharyngeal Candidiasis in the Era of Antiretroviral Therapy. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, 109(4), 488–495.
<https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2009.11.026>
- Tobin, N. H., & Aldrovandi, G. M. (2013). Immunology of pediatric HIV infection. *Immunological Reviews*, 254(1), 143–169. <https://doi.org/10.1111/imr.12074>
- Tsang, C. S., & Samaranayake, L. P. (1999). Factors affecting the adherence of *Candida albicans* to human buccal epithelial cells in human immunodeficiency virus infection. *The British Journal of Dermatology*, 141(5), 852–858.
- U.S. Department of Health and Human Services, Health Resources and Services Administration, HIV/AIDS Bureau. (2014). HIV Classification: CDC and WHO Staging Systems. En *Guide for HIV/AIDS clinical care*. Recuperado de
<http://aidsetc.org/guide/hiv-classification-cdc-and-who-staging-systems>

- Vazquez, J. A., & Sobel, J. D. (2002). Mucosal candidiasis. *Infectious Disease Clinics of North America*, 16(4), 793–820. [https://doi.org/10.1016/S0891-5520\(02\)00042-9](https://doi.org/10.1016/S0891-5520(02)00042-9)
- Vinh, D. C. (2011). Insights into human antifungal immunity from primary immunodeficiencies. *The Lancet Infectious Diseases*, 11(10), 780–792. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70217-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70217-1)
- White, T. C., Holleman, S., Dy, F., Mirels, L. F., & Stevens, D. A. (2002). Resistance Mechanisms in Clinical Isolates of *Candida albicans*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46(6), 1704–1713. <https://doi.org/10.1128/AAC.46.6.1704-1713.2002>
- Wood, L. F., Chahroudi, A., Chen, H.-L., Jaspan, H. B., & Sodora, D. L. (2013). The oral mucosa immune environment and oral transmission of HIV/SIV. *Immunological Reviews*, 254(1), 34–53. <https://doi.org/10.1111/imr.12078>
- World Health Organization. (2007). *WHO case definitions of HIV for surveillance and revised clinical staging and immunological classification of HIV-related disease in adults and children*. Geneva: World Health Organization.
- World Health Organization. (2016). *Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach*. (Second edition). Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK374294/>
- World Health Organization, World Health Organization, & Department of HIV/AIDS. (2010). Antiretroviral therapy for HIV infection in adults and adolescents: recommendations for a public health approach. Recuperado el 29 de agosto de 2017, de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK138540/>
- Xu, H., Wang, X., & Veazey, R. S. (2013). Mucosal immunology of HIV infection. *Immunological Reviews*, 254(1), 10–33. <https://doi.org/10.1111/imr.12072>
- Yengopal, V., Bhayat, A., & Coogan, M. (2011). Pediatric oral HIV research in the developing world. *Advances in dental research*, 23(1), 61–66.

Zapata-Garibay, R., González-Fagoaga, J. E., & Rangel-Gómez, M. G. (2014).
Mortalidad por VIH/SIDA en la frontera norte de México: niveles y tendencias
recientes. *Papeles de población*, 20(79), 39–71.