

Artículo original

Especies de *Candida* colonizantes de cavidad oral en pacientes pediátricos oncológicos hospitalizados en el IAHULA, Mérida, Venezuela

Yasmin Varela^{a,*}, Noraima Herrera^a, Sarelle Carrero^a, Clara Díaz^a, Magdalena Correa^b, Oduar Salazar^a

^aLaboratorio de Micología, Departamento de Microbiología, Facultad de Farmacia y Bioanálisis, Universidad de Los Andes.

^bInstituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes, Mérida, Venezuela.

Recibido 18 de julio de 2013; aceptado 27 de noviembre de 2013

Resumen: En pacientes con procesos neoplásicos, el tratamiento utilizado constituye un agente inductor del desequilibrio de la microbiota oral, permitiendo que la cavidad bucal se torne en un ambiente idóneo para la colonización y proliferación de microorganismos causantes de infecciones oportunistas como *Candida* spp. Se identificaron las especies de *Candida* colonizantes de cavidad oral en 26 pacientes pediátricos oncológicos hospitalizados en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes. Se tomaron muestras de la cavidad oral, se cultivaron en agar Sabouraud dextrosa con antibiótico y las levaduras fueron identificadas por métodos convencionales: formación de tubo germinal, formación de clamidoconidias, auxanograma y producción de color en el medio cromogénico Hicrome *Candida* agar base. Se obtuvo un 59,3% de colonización, predominando *C. albicans* con un 64%, seguido por las especies de *Candida* no *albicans*: *C. krusei* 19,5%, *C. glabrata* 9,8%, *C. tropicalis* 4,9% y *C. parapsilosis* 2,4%. Estas especies colonizantes no fueron concluyentes ni específicas de una patología oncológica determinada, sin embargo la estancia hospitalaria favoreció la colonización por las especies de *Candida* no *albicans*. El conocimiento de las especies colonizantes de cavidad oral ofrece información epidemiológica útil que permitirá orientar una profilaxis adecuada y un tratamiento oportuno, en caso de desarrollarse una candidiasis oral.

Palabras clave: *Candida* spp., colonización por especies de *Candida*, pacientes pediátricos oncológicos.

Candida species colonizing the oral cavity of pediatric oncology patients hospitalized at the IAHULA, Merida, Venezuela

Abstract: In patients with neoplastic processes, the treatment being used constitutes an agent which induces an unbalance of oral microbes, making the oral cavity a suitable environment for colonization and proliferation of microorganisms that produce opportunist infections such as *Candida* spp. In a study of 26 pediatric patients hospitalized at the Instituto Autónomo Hospital Universitario de los Andes, we identified the oral colonizing *Candida* spp. in these patients. Samples taken from the oral cavity were cultured in Sabouraud dextrose agar with antibiotics and the yeasts were identified by conventional methods: germinal tubes and chlamydoconidia formation, auxanogram, and color production with the medium Hicrome *Candida* chromogenic agar base. We determined 59.3% colonization with predomination of *C. albicans* in 64%, followed by non *albicans* *Candida* spp: *C. krusei* 19.5%, *C. glabrata* 9.8%, *C. tropicalis* 4.8%, and *C. parapsilosis* 2.4%. None of these colonizing species were conclusive or specific for a determined oncologic pathology; nevertheless, the hospitalization period favored colonization by non *albicans* *Candida* spp. Information about the colonizing species of the oral cavity offers useful epidemiological information for the orientation of adequate prophylaxis and opportune treatment when oral candidiasis develops.

Keywords: *Candida* spp., colonization by *Candida* spp., oncologic pediatric patients.

* Correspondencia:

E-mail: yasmin@ula.ve

Introducción

Los procesos neoplásicos constituyen la tercera causa de mortalidad humana en todo el mundo, incluyendo tanto a pacientes pediátricos como adultos [1-3]. Debido a que en los últimos años las neoplasias infantiles han

adquirido una relevancia progresiva, el curso clínico de estas manifestaciones junto con la aplicación de la terapia antineoplásica, frecuentemente generan complicaciones y efectos adversos, ya sea de carácter agudo o crónico [1,3].

La mayoría de las especies de *Candida* comúnmente aisladas en la cavidad oral no son consideradas patógenas

en un niño sano, pero si el paciente presenta condiciones de inmunocompromiso y se encuentra expuesto a factores de riesgo, tales como: intubación endotraqueal, catéter venoso central, cateterización urinaria, nutrición parenteral, estancia prolongada en la unidad de cuidados intensivos, antibióticos de amplio espectro, infecciones bacterianas, corticosteroides, transfusiones sanguíneas, procedimientos quirúrgicos recientes, tratamiento antineoplásico, infección por el Virus de Inmunodeficiencia Humana, neutropenia, trasplante de médula ósea y procesos neoplásicos, estos permiten que los hongos se comporten como oportunistas, causando así una infección micótica [1,4-10].

Dado que las especies de *Candida* forman parte de la flora habitual de las mucosas del ser humano, su aislamiento impide diferenciar entre colonización, infección y enfermedad profunda. El diagnóstico de candidiasis invasora es un reto para el clínico, debido a que su expresión clínica es inespecífica o bien aparecen los signos y síntomas cuando la enfermedad ya tiene un curso clínico prolongado [4-7,11-14].

Siendo la colonización un prerrequisito para el avance de la candidiasis oral, el desarrollo de cambios secundarios en la ecología de la flora endógena también promueve la proliferación, crecimiento y colonización de *Candida* sp. sobre las superficies de la piel y mucosas. En las células epiteliales orales, la invasión por este microorganismo ocurre por dos mecanismos: penetración activa de la hifa mediante la secreción de proteasas aspárticas (enzimas líticas) que digieren los componentes de la superficie celular y la endocitosis por parte de las células epiteliales, estimulando la formación de estructuras similares a pseudópodos, conllevando de esta manera al desarrollo de una candidiasis oral [7,10,12,13,15-17].

Debido a la elevada incidencia de manifestaciones orales causadas por especies de *Candida* en niños con enfermedad neoplásica, se planteó como objetivo de esta investigación identificar las especies de *Candida* colonizantes de la cavidad oral en los pacientes pediátricos oncológicos, hospitalizados en el Instituto Autónomo Hospital Universitario de Los Andes (IAHULA) de la ciudad de Mérida, Venezuela.

Materiales y métodos

Población: Pacientes pediátricos con edades comprendidas entre 2 y 16 años, hospitalizados en el área de oncología del IAHULA, Mérida, Venezuela, durante los meses de enero hasta junio del 2010. Los padres y/o representantes manifestaron la voluntad de que su representado participara en el estudio mediante el consentimiento informado.

Criterios de inclusión: Paciente pediátrico oncológico, sin tratamiento antifúngico ni estancia hospitalaria previa y prolongada al momento del inicio del estudio.

Criterios utilizados para considerar una candidiasis oral: Se consideró la presencia de candidiasis oral como la aparición de signos y síntomas compatibles con la enfermedad, así

como la presencia de levaduras, hifas y/o pseudohifas en cantidad moderada a abundante en el examen directo de la muestra clínica, correlacionada con el crecimiento levaduriforme en los medios de cultivos [18].

Criterios utilizados para considerar una colonización por especies de *Candida*: Se consideró la presencia de colonización por *Candida* como la ausencia u observación de escasas levaduras en el examen directo de la muestra clínica más crecimiento levaduriforme en los medios de cultivos, sin evidencia de signos y síntomas compatibles con candidiasis oral [18].

Estudio micológico:

Procesamiento de la muestra: Las muestras de la cavidad oral se tomaron con hisopos al momento del ingreso, a las 72 horas de estancia hospitalaria y al momento del egreso, y se colocaron en solución salina fisiológica estéril. A cada muestra se le realizó examen directo al fresco. Luego se sembraron en agar Sabouraud dextrosa con cloranfenicol incubándose a temperatura ambiente. Las levaduras aisladas se purificaron en agar Sabouraud dextrosa.

Identificación de las levaduras: Se utilizaron métodos convencionales de identificación: formación de clamidoconidias en bilis agar, formación de tubo germinal en albúmina de huevo, auxanograma y producción de color en el medio cromogénico Hicrome *Candida* agar base modificado (Oxoid®) [19].

Resultados

Se estudiaron 26 pacientes pediátricos con enfermedades neoplásicas, de ellos 61,5% (16) estaban colonizados por especies de *Candida*, determinado por la ausencia u observación de escasas levaduras en el examen directo y el crecimiento levaduriforme en los medios de cultivos, mientras que en el 38,5% (10) restante, el grado de colonización fue muy bajo y/o no hubo colonización, determinado por la ausencia de levaduras en el examen directo y ausencia de crecimiento en los medios de cultivo.

La especie de *Candida* aislada con mayor frecuencia de los casos de colonización fue *C. albicans* representando un 63,4% (26 aislamientos), seguido por las especies de *Candida* no *albicans* donde *C. krusei* correspondió a 19,5% (8), *C. glabrata* a 9,8% (4), *C. tropicalis* a 4,9% (2) y *C. parapsilosis* a 2,4% (1). De acuerdo con la distribución de las especies de *Candida* colonizantes, recuperadas en los diferentes intervalos de muestreo (ingreso del paciente pediátrico al área de oncología, 72 horas de estancia hospitalaria y egreso del paciente), *C. albicans* prevaleció con un mayor número de aislamientos, seguido por *C. krusei* y *C. glabrata*, (Tabla 1).

En la tabla 2 se muestra la distribución de las diferentes especies de *Candida* colonizantes de la cavidad oral y las patologías oncológicas presentadas por los niños. La leucemia linfóide aguda fue la patología predominante representando un 18,8%, con 17,8% de colonización por especies

Tabla 1. Distribución de las especies de *Candida* colonizantes de la cavidad oral recuperadas a diferentes intervalos de muestreo en los pacientes pediátricos hospitalizados en el área de oncología del IAHULA. Mérida, Venezuela. Enero a junio de 2010.

| | <i>Candida albicans</i> | <i>Candida krusei</i> | <i>Candida glabrata</i> | <i>Candida parapsilosis</i> | <i>Candida tropicalis</i> |
|-----------------------------------|-------------------------|-----------------------|-------------------------|-----------------------------|---------------------------|
| Ingreso | 18 | 4 | 1 | 1 | 0 |
| 72 horas de estancia hospitalaria | 5 | 3 | 2 | 0 | 2 |
| Egreso | 3 | 1 | 1 | 0 | 0 |
| Total | 26 | 8 | 4 | 1 | 2 |

de *Candida*. En segundo lugar estuvieron los pacientes con osteosarcoma, retinoblastoma y neuroblastoma, cada uno con 12,5%; en ellos se aislaron porcentajes de 4,9%, 12,2% y 24,4% de las especies de *Candida*, respectivamente.

Se observó además 6,3% de frecuencia de cada una de las siguientes patologías oncológicas: tumor de ovario, rhabdomyosarcoma, tumor mediastínico, aplasia medular, linfoma de Hodking, tumor de Ewing y ganglioneuroblastoma, con un predominio de aislamiento de especies de *Candida* de 12,2%, 9,8%, 7,3% y 4,9% en los primeros cuatro procesos respectivamente, y de 2,4% en los tres restantes.

La ausencia de un número significativo de pacientes en cada cuadro clínico oncológico no permitió establecer una comparación entre estas patologías y las especies de *Candida* identificadas. Sin embargo, durante los intervalos de muestreo realizados en este estudio, se observó que, en los pacientes con estancia hospitalaria de 72 horas, hubo

un aumento de las especies de *Candida* no *albicans* con respecto a *Candida albicans*. Sólo una de las pacientes presentó colonización mixta por *Candida* spp.; no obstante, ninguno de los pacientes pertenecientes a este estudio desarrolló candidiasis oral.

Discusión

En un individuo saludable, la cavidad oral se encuentra colonizada por múltiples microorganismos, entre ellos bacterias y hongos, los cuales mantienen una relación comensalista sin causarle daño a su hospedero; situación contraria ocurre cuando un paciente se encuentra en condiciones de inmunocompromiso, donde estos microorganismos, a pesar de no ser patógenos, proliferan y se diseminan causando infecciones que ponen en riesgo la vida del paciente [4,6,9,11,13,14,20,21].

En la realización de este estudio, se pudo establecer la frecuencia de las especies de *Candida* recuperadas como colonizantes en pacientes pediátricos oncológicos del IAHULA obtenidas de cavidad oral, encontrándose una colonización de 61,5% (16/26pacientes), similar a lo reportado por Rueda y col. [21], quienes obtuvieron un 59,6% de colonización; sin embargo, estos resultados difieren a los obtenidos por Paz y col. [22], Kemmelmeier *et al.* [23], y Durango y col. [24] que reportaron un 43%, 77% y 23,3% de colonización respectivamente.

Actualmente la colonización e infección por las especies de *Candida*, no se encuentra exclusivamente confinada a *C. albicans*, ya que muchos estudios han demostrado un incremento de las infecciones causadas por las especies de *Candida* no *albicans* [8,12,14,17,24,25], situación que se pudo observar en este estudio, donde *C. albicans*

Tabla 2. Distribución de las especies de *Candida* colonizantes de la cavidad oral y las patologías oncológicas de los pacientes pediátricos hospitalizados en el área de oncología del IAHULA. Mérida, Venezuela. Enero a junio de 2010.

| Patología | Nº (%) | <i>C. albicans</i> (n=26) % - (Nº) | <i>C. krusei</i> (n=8) % - (Nº) | <i>C. glabrata</i> (n=4) % - (Nº) | <i>C. tropicalis</i> (n=2) % - (Nº) | <i>C. parapsilosis</i> (n=1) % - (Nº) | Total (%) |
|----------------------------|----------|--|---------------------------------------|---|---|---|--------------|
| Leucemia linfocítica aguda | 3 (18,8) | 9,8 (4) | 7,3 (3) | - | - | - | 17,8 |
| Linfoma de Hodking | 1 (6,3) | - | 2,4 (1) | - | - | - | 2,4 |
| Osteosarcoma | 2 (12,5) | - | 2,4 (1) | 2,4% (1) | - | - | 4,9 |
| Retinoblastoma | 2 (12,5) | 9,8 (4) | - | 2,4% (1) | - | - | 12,2 |
| Neuroblastoma | 2 (12,5) | 14,6 (6) | 2,4 (1) | 2,4% (1) | 2,4 (1) | 2,4 (1) | 24,4 |
| Rhabdomyosarcoma | 1 (6,3) | 9,8 (4) | - | - | - | - | 9,8 |
| Tumor mediastínico | 1 (6,3) | 7,3 (3) | - | - | - | - | 7,3 |
| Tumor de ovario | 1 (6,3) | 9,8 (4) | 2,4 (1) | - | - | - | 12,2 |
| Tumor de Ewing | 1 (6,3) | - | 2,4 (1) | - | - | - | 2,4 |
| Ganglioneuroblastoma | 1 (6,3) | 2,4 (1) | - | - | - | - | 2,4 |
| Aplasia medular | 1 (6,3) | - | - | 2,4% (1) | 2,4% (1) | - | 4,9 |
| Total | 16 (100) | 63,4 (26) | 19,5 (8) | 9,8 (4) | 4,9 (2) | 2,4 (1) | 100 |

fue la especie colonizante aislada con mayor frecuencia representando el 63,4%, seguida por las especies de *Candida* no *albicans* con 36,4%. En el mismo orden de ideas, Rueda y col. [21] obtuvieron predominio de *C. albicans* (50,3%) y menor porcentaje para *Candida* no *albicans* (9,3%), mientras que Durango y col. [24] reportaron lo contrario: 46,7% para *Candida albicans* y 53,4% para *Candida* no *albicans*.

Muchos autores han reportado a *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. glabrata* como segundos patógenos causantes de infecciones micóticas, después de *C. albicans* [5,13,15,16,23,25]. En este estudio se observó un incremento de las especies de *Candida* no *albicans*, específicamente de *C. krusei* con 19,5% y *C. glabrata* con 9,8%, como segunda y tercera especies colonizantes, asociado al aumento de la estancia hospitalaria, hecho que también fue observado por Durango y col. [24], aunque difieren en las especies aisladas, reportando a *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* como las especies principalmente predominantes luego de *C. albicans*.

Es de suma importancia tener en cuenta que *C. krusei* y *C. glabrata* poseen resistencia intrínseca y secundaria respectivamente al fluconazol, que es el tratamiento antifúngico utilizado para el tratamiento de la candidiasis oral; es importante tomar en cuenta que es posible que el paciente desarrolle una candidiasis oral a partir de un foco colonizante que no responda a tratamiento antifúngico. Pese a que Rueda y col. [21], reportaron en su estudio pacientes que desarrollaron candidiasis oral, producto de la colonización previa por especies de *Candida*, en el presente estudio ninguno de los pacientes desarrolló esta micosis.

A pesar de no poder establecer una comparación entre los diferentes cuadros clínicos oncológicos y las especies de *Candida* identificadas en este estudio, se pudo evidenciar que *C. albicans* fue la especie colonizante más frecuente en las patologías estudiadas, seguida por *C. krusei*. Sin embargo, estas especies de *Candida* aisladas como colonizantes no son concluyentes ni específicas de un cuadro oncológico determinado, y su presencia como colonizantes en la cavidad oral es un acontecimiento común, tanto en personas sanas como pacientes inmunosuprimidos. La variación de la colonización por las especies de *Candida* no *albicans*, y su respectivo incremento asociado al aumento de la estancia hospitalaria, podría deberse a la adquisición nosocomial de las mismas y/o estar relacionada posiblemente con tratamiento antifúngico previo.

El conocimiento de las especies colonizantes de la cavidad oral en estos pacientes ofrece información epidemiológica útil, que permitirá orientar una profilaxis adecuada y un tratamiento oportuno y acertado, en caso de desarrollarse una candidiasis oral.

Referencias

- Cabrerizo MC, Oñate R. Aspectos odontoestomatológicos en oncología infantil. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2005; 10:41-7.
- Belfield P, Dwyer A. Oral complications of childhood cancer and his treatment: current best practice. *Eur J Canc*. 2003; 40:1035-41.
- Gordón M, Pereira L, Sousa B, Oliveira P, Fernandes M. Evaluación clínica de la salud oral de niños con neoplasias malignas. *Av Odontoestomatol*. 2005; 21:127-39.
- Hassan F, Xess I, Wang X, Jain N, Fries B. Biofilm formation in clinical *Candida* isolates and its association with virulence. *Microb Infect*. 2009; 20:1-9.
- Hobson R. The global epidemiology of invasive *Candida* infections-is the tide turning? *J Hosp Infect*. 2003; 55:159-68.
- Martínez L, Dávila J, Cajero A, González R. Niños con cáncer, neutropenia y fiebre. *Rev Enferm Infec Pedriat*. 2008; 21:104-13.
- Palacio A, Alhambra A, Cuétara S. Factores de riesgo de la candidiasis invasora: estratificación. *Rev Iberoam Micol*. 2006; 23:29-31.
- Palacio A, Villar J, Alhambra A. Epidemiología de las candidiasis invasoras en población pediátrica y adulta. *Rev Iberoam Micol*. 2009; 26:2-7.
- Shimizu Ch, Kuriyama T, Williams D, Karasawa T, Inoue K, Nakagawa K *et al*. Association of oral carriage with specific host factors and altered mouth sensation. *Oral Surg Oral Med Oral Patol Oral Radiol Endod*. 2008; 105:445-51.
- Dalle F, Wächtler B, L'Ollivier C, Holland G, Bannert N, Wilson D *et al*. Cellular interactions of *Candida albicans* with human oral epithelial cells and enterocytes. *Cell Microbiol*. 2010; 12:248-71.
- Algar V, Novelli V. Infections in the immunocompromised host. *Paediatr Child Health*. 2007; 17:132-6.
- Filioti J, Spiroglou K, Roilides E. Invasive candidiasis in pediatric intensive care patients: epidemiology, risk factors, management, and outcome. *Intens Care Med*. 2007; 33:1272-83.
- Giusano G, Mangiaterra M, Garcia V, Rojas F, Gómez V, Diaz M. Etiology of fungemia and catheter colonization in Argentinean paediatric patients. *Mycoses*. 2006; 49:49-54.
- Krcmery V, Barnes JA. Non-*albicans* *Candida* spp. causing fungaemia: pathogenicity and antifungal resistance. *J Hosp Infect*. 2002; 50:243-60.
- Miranda L, Van der Heijden I, Costa S, Sousa A, Sienna R, Gobara S *et al*. *Candida* colonization as a source for candidaemia. *J Hosp Infect*. 2009; 72:9-16.
- Panizo M, Reviákina V. *Candida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. *Rev Soc Ven Microbiol*. 2001; 21:38-45.
- Soni N, Wagstaff A. Fungal infection. *Curr Anaesth Crit Care*. 2005; 16:231-41.
- Enache A. Reglas de interpretación de las infecciones por *Candida*. *Acta Bioquim Clin Latinoam*. 2007; 41:587-93.
- Pincus D, Orenga S, Chatellier S. Yeast identification- past, present, and future methods. *Med Mycol*. 2007; 45:97-121.
- Eggimann P, Garbino J, Pittet D. Epidemiology of *Candida* species infections in critically ill non-immunosuppressed patients. *Lancet Infect Dis*. 2003; 3:685-705.
- Rueda F, Hernández S. Prevalencia de *Candida albicans* aislada de la cavidad oral de pacientes con cáncer. *Rev Odontol Latinoam*. 2008; 0:38-41. Disponible en: <http://www.odontologia.uady.mx/revistas/rol/pdf/V00N2p38.pdf>. Acceso febrero de 2013.
- Paz M, Kahl S, Escovich L, Garófalo F, Bulacio L, López

- C. Presencia de hongos levaduriformes en cavidad oral en pacientes con tratamiento oncológico por cáncer de cabeza y cuello. Caracterización fenotípica. Estudio piloto. Anuario Fundación Dr. JR Villavicencio. 2007; XV:141-6. Disponible en: <http://www.villavicencio.org.ar/pdf07/141.pdf>. Acceso enero de 2013.
23. Kimmelmeier E, Ferreira M, Stefano L, Estivalet T. Colonização da mucosa oral por leveduras, em pacientes oncológicos, encaminhados para quimioterapia em Maringá-PR. Cienc Cuid Saude. 2008; 7:69-75.
24. Durango H, Hernández M, Zapata C, Sierra M, Peña J, Aristizábal M y col. Colonización por especies de *Candida* en orofaringe y tracto gastrointestinal en niños con neutropenia febril. Infectio. 2002; 6:156-61.
25. Mavor A, Thewes S, Hube B. Systemic fungal infections caused by *Candida* species: Epidemiology, infection process and virulence attributes. Curr Drug Targets. 2005; 6:863-74.