

Gradu Amaierako Lana / Trabajo Fin de Grado
Odontologia Gradua / Grado en Odontología

Ahoko *Candida* kolonizazioa eta espezieen banaketaren ikerketa paziente tabako erretzaileetan

Egilea /Autor:

Lidia Indacoechea Lucambio

Zuzendaria / Director/a:

Nerea Jaureguizar Albonigamayor

Sandra Gil Alonso

AURKIBIDEA

1. SARRERA	1
1.1. AHO-KANDIDIASIA	1
1.1.1. Kandidiasi diagnostikoa.....	4
1.1.2. Tratamendua	7
1.2. FAKTORE BALDINTZAGARRIAK	8
2. HELBURUAK	10
3. MATERIALAK ETA METODOLOGIA	11
3.1. PAZIENTEAK	11
3.1.1 Barneratze irizpideak.....	11
3.2. ESPLORAZIOAK	12
3.2.1. Materialak	12
3.2.2. Prozedura	12
3.2.2.1. Listu fluxuaren neurketa.....	12
3.2.2.2. <i>Candida</i> -ren neurketarako lagina hartzea.....	12
3.3. CANDIDA-REN KUANTIFIKAZIOA ETA IDENTIFIKAZIOA LAGINETAN	12
3.3.1. Materialak	12
3.3.2. Prozedura	13
3.3.2.1. Metodo biokimikoa, ID32C.....	13
3.3.2.2. Metodo molekularra, PCR	15
3.4. DATUEN ANALISIA ETA ESTADISTIKA	16
4. EMAITZAK	16
5. EZTABAIDA	20
6. ONDORIOAK	24
7. BIBLIOGRAFIA	25
8. ERANSKINAK	29

1. SARRERA

1.1. AHO-KANDIDIASIA

Gizakion ahoko mikroflora mikroorganismo anitzek osatzen dute; bakteriarik, birus, protozoo eta fungi familiakoak hain zuzen ere. Mikroorganismo hauen presentzia aldatu egiten da gizabanako bakoitzaren artean; dietak, laginak hartzen diren maiztasuna eta denborak, kokapen geografikoak eta honen egoerak eta mikroinguruak baldintzatuko dute mikroorganismoen kantitatea. (Montelongo-Jauregui et al., 2018). Onddo batzuen akzio patogenoak hainbat gaixotasun infekzioso eragin ditzake eta gaixotasun hauei mikosiak deitzen zaie. Onddo espezie batzuek gorputzeko ehun eta organu desberdinak kolonizatu, erasotu eta biderkatzeko gai dira, lehendik osasuntsu zegoen ostalari bati edo defentsa mekanismo baxuak dituen gizabanakoari mikosiak sortuz (Coronado-Castellote et al., 2013).

Ahoko mikosi mukokutaneoak sortzen dituen onddorik ezagunenetariko bat *Candida* spp. da eta orofaringeoko kandidiasia eragiten du. Biztanleria orokorraren %75an *Candida* aurkitu izan da ahoan. Guztira 150 *Candida* espezie bereiztea lortu ahal izan badira ere, %95 *Candida albicans*-i dagokio, zein berak bakarrik kolonizatu dezakeen aho kabitatean edo *Candida glabrata* edo *Candida tropicalis*-ekin batera (%7 paziente osasuntsuetan eta %80 kandidiasia duten pazienteetan). Kolonizazioa jaiotzetik gertatzen da eta handiagoa da bizitzako muturreko adinetan (umeak, haurrak eta adinekoak) (Coronado-Castellote et al., 2013; Quindós et al., 2019).

Candida 3-30µm-ko diametroa eta forma obalatu duen legami biribila da. Broteetan erreproduzitzen da, asexualki. Ama zelulatik bulto edo brote protoplasmatico batzuk ateratzen dira eta hazi egiten direnean banandu egiten dira beste zelula berriak osatuz. Batzuetan, zelula horiek ez dira banatzen eta zelula kateak osatzen ditute, hau da, pseudohifak. Hauek askotan hifekin nahasi daitezke. Hifak, zelula horma edukitzen dute eta mizelioa osatzen dute (Coronado-Castellote et al., 2013). *Candida* espezie ezberdinak gizakiaren ahoko mikrofloraren zati dira saprofito izanez, baina hainbat faktorek mikrofloran aldaketak eragin ditzake ostalariaren ahoan eta patogeno oportunistak bihurtzen dira, gizakiari infekzio akutu edo kronikoak sortuz (Sadegui et al., 2018). Espezie hauetatik garrantzitsuena *C. albicans* da eta gizakietan birulentzia altuena duena dela pentsatzen da (Garcia-Cuesta et al., 2014) beste ahoko bakteriekin

elkartzeko gaitasuna duelako adherentzia edo elkartzeko propietateen bidez biopelikulak (espezie derberdinetako komunitate mikrobiar konplexuak) sortuz eta *Candida*-ren patogenizitatea aldatuz (Millsop et al., 2016; Montelongo-Jauregui et al., 2018).

Bakterio horietako batzuk ahoa kolonizatzen estreptokokoak eta *Actinomyces* spp. dira. Hauek ahoko ehun desberdinetara itsasten dira adhesina desberdin batzuk adierazten dituztelako hauen zelularen gainazalean, zeinak garrantzitsuak diren hortzetara eta beste mikroorganismoekin itsasteko lotura espezifikoa eta ez espezifikoa batzuen bitartez (Montelongo-Jauregui et al., 2018).

Lotura hauen emaitza mikroorganismoen artean sinergia lortzea izaten da, hau da, batak bestearen efektua handitu egin dezake, eta ahoko kandidiasiaz gain, beste gaixotasun batzuk potentziatu ahal dira (Montelongo-Jauregui et al., 2018). Dahlenek eta laguntzaileek egindako ikerketaren arabera, *Enterococcus faecalis* eta *C. albicans* sustraietako infekzio eta infekzio periapikalak %10-a eta ahoko mukosaren %40a zirela ikusi zen (Dahlen et al., 2012).

Klinikoentzat garrantzitsua da aho kandidiasiarenekin ezaugarri klinikoak eta bakoitzaren sintomatologia ezagutzeko. Ahoko kandidiasiarenekin sailkapena hainbat modutara egin daiteke. Klinikoki bi motatakoa izan daiteke: txuria edo eritematosa. Hala ere, ezaugarria hauekin bat ez datozen beste kandidiasi mota batzuk ere badaude (Millsop et al., 2016).

Aho kandidiasi txuriak

1. Kandidiasi pseudomenbranosa

Gehien ikusten den kandidiasia da. Aftak ikusten dira eta kasuen herenak edo gehiagok plaka txuriak izaten dituzte mihian, ahosabai gogorra eta bigunean, ahoko mukosaren eta faringean. Legamiaren gehiegizko hazkuntza, epitelio zelulen deskamazioa eta keratina, fibrina, ehun nekrotiko eta hifen akumulazioa gertatzen da (Millsop et al., 2016).

Patton (2013)-ek dioen arabera, farmako immunosupresiboak, transplanteak, kortikosteroide inhalatzaileak eta arazo immunologikoak (HIESA, adibidez) dituzten pazienteetan ohikoa izaten da mota honetako lesioak izatea.

2. Kandidiasi hiperplasikoa

Ongi definituta, pixka bat igota eta plaka txuriak ahoko mukosari itsatsita ikusi daitezke. Lesioek nodulo eta moteatua itxura izan dezakete eta ez da ohikoa izaten ahosabaian edo mihiaren alde batean aurkitzea (Millsop et al., 2016).

Aho kandidiasi eritematosoak

1. Kandidiasi akutu atrofikoa

Lesio gorriak ikusten dira mihiaren gainazalean, ahoko mukosan, eta batez ere ahosabaian (bereziki HIESA daukaten pazienteetan). Pazienteek ahoko minaren sentsazioa pairatzen dutela esaten dute eta askotan espektru altuko antibiotikoak hartu ondoren agertzen da (Millsop et al., 2016).

2. Kandidiasi kroniko atrofikoa

Protesiak erabiltzen dituzten pazienteetan ikusi ahal da. Lesioak eritematosoak eta edematosoak dira protesiarekin kontaktuan dauden mukosan ikusi ahal izaten da (Millsop et al., 2016).

3. Erdiko glositis erronboidala

Simetrikoa, eritematosa eta erronbo formako adabaki bat da, mihiaren gainazalean agertzen dena, erdiko partean. Azalera distiratsua eta lisoa izaten da (Millsop et al., 2016).

Normalean, asintomatikoa izaten da eta tabakoa eta kortikoesteroide inhalatzaileekin erlazionatzen da (Sharon et al., 2010).

4. Keilitis angularra

Ahoko komisurretan zehar pitzadurak ikusten dira eta hauek mina ematen dute gehienetan. Bilateralak izaten da eta protesi erabiltzaileetan, ezpaina zurrupatzen edo hozkatzen dutenetan ohikoa da. Izan ere, leku hauetan listuaren akumulazioa dela eta ingurune hezea egokitzen da eta honek *Candida*-ren gehiegizko hazkuntza ematea erraztu dezake (Millsop et al., 2016).

5. Eritema gingival linearra

Hortzen inguruko hortzoian agertu daitekeen banda eritematosa da. HIESA-rekin erlazionatua dago; hala ere, haur osasuntsuetan agertu daitekeela ikusi da (Samaranayake et al., 2000).

Beste kandidiasi batzuk

Ezaugarri morfologiko eta faktore predisponente desberdinak dituztenez, beste talde batean sailkatzen dira. Hauek hiru dira: kandidiasi mukokutaneo kronikoa, keilokandidiasia eta kandidiasi multifokal kronikoa.

Kandidiasiaren itxuraz gain, badira beste autore batzuk aho kandidiasia iraupenaren arabera sailkatzen dutenak (**1. Taula**) (Garcia-Cuesta et al., 2014).

1. Taula. Kandidiasiaren klinika.

Akutua	Kronikoa	Beste lesioak
Pseudomenbranosoa	Pseudomenbranosoa	Keilitis angularra
Eritematosoa	Eritematosoa	Protesiekin erlazionatutako eritematosaok
	Hiperplasia	Glositis erronboidal erdikoak

Aho kandidiasien forma guztien prebalentzia eta intzidentzia handitu egin dira azkeneko hamarkadetan. Kandidiasi pseudomenbranosoa ume eta haurren %1 eta %30tan ematen da eta minbizia duten pazienteen %7-60 eta HIESA duten %90 baino gehigori agertzen zaio kandidiasi mota hau (Quindós et al., 2019).

1.1.1. Kandidiasi diagnostikoa

Espezie bakoitzaren ezaugarriak, patogenezitatea, frekuentzia eta eremu geografikoa ez direnez berdinak, hauen bakarkako diagnostikoa egitea oso garrantzitsua da tratamendu espezifiko eta eraginkorra emateko (Sadegui et al., 2018).

Kandidiasiaren diagnostiko klinikoa izaten da normalean. Klinikoak kandidiasiaren lesio desberdinak ezagutu behar ditu azterketa fisiko bat egiteko. Honez gain, pazientearen historia kliniko konpletu bat egitea ezinbestekoa da, diagnostikoarekin

asmatzeko. Azterketa fisikoa egin ondoren, askotan gas zati batekin igurtzi egiten da lesioa txuria denean. Gasa pasatu eta plaka txuria kentzen bada, kandidiasia dela esaten da. Metodo hau leukoplasia, liken laua, arazo immunologikoen lesio kronikoak, erredura kimikoak, traumak, nutrizio defizientziak, kimioterapiak eragindako mukositatea eta sifilisaren txankro primarioarengandik bereizteko erabiltzen da. Kandidiasi eritematosoaren diagnostiko diferentziala liken laua, anemia perniziosoa, traumak lupus eritematoso sistemikoa, zink gabeziak eta eritema multiformearekin egiten da (Millsop et al., 2016).

Lesioen baieztapena mikroskopikoarekin egin daiteke (Garcia-Cuesta et al., 2014). Ahoko *Candida*-ren isolamendua egiteko teknika desberdinak daude: frotis zitologikoa, listuaren lagin konpletu bat Sabouraud Dextrosaren Agarrarekin (SDA) hazkuntza egiteko, aho iragazketaren lagin bat eta biopsia bat (Millsop et al., 2016). Biopsia kandidiasi hiperplasiakoa den kasuetan egiteko indikatuta dago, displasia aurkeztu ahal dezakelako (Garcia-Cuesta et al., 2014).

Legamien identifikazioa egiteko lau metodo erabiliz egin daiteke: morfologikoa, biokimikoa, immunologikoa eta genetikoa (aho kandidiasien diagnostikoa egiteko) (Coronado-Castellote et al., 2013).

Hazkuntza inguruneak erabiliz, *Candida* spp isolatu eta identifikatu ahal dira. *C. albicans* identifikatzeko, filamentazio goiztiarraren proba edo tubo germinalaren proba erabiltzen dira. 24-48 ordu inkubatu ondoren, *C. albicans*-en ezaugarri tipikoa den tubo germinalak ikusi ahal izaten dira. Hauek ikusten badira, *C. albicans* edo/eta *Candida dubliniensis*-ek sortutako infekzio bat dela esaten da. Aldiz, ez badira tubo germinal hauek ikusten, beste *Candida* espezieek sortutakoa izanen da (Coronado-Castellote et al., 2013).

Beste *Candida* espezieak aztertu behar direnean, metodo biokimikoak erabili ahal izaten dira; entzimen teknikak, mantenugaien asimilazio metodoak eta teknika mistoak besteak beste. Teknika entzimatiakoek legamien entzima batzuen aktibitatea detektatzen dute sustratu kromogeniko baten hidrolisi espezifiko baten bidez. Gaur egun, entzima teknika asko aurkitu daitezke merkatuan (CHROMagar Candida®, ChromID® Candida, Candida ID 2®, CHROMagar-PAL® eta abar). Hurrengo taulan

(2. Taula) zein kolorez hazten diren *Candida*-ren espezie desberdinak CHROMagar *Candida*® eta ChromID® *Candida* ingurune kromogenoetan ikus daitezke.

2. Taula. CHROMagar *Candida*® eta ChromID® *Candida* ingurune kromogenoak eta *Candida*-ren hazkundera. Ingurune kromogeno desberdinetan zein kolorez hazten diren *Candida*-ren espezieak ikusten da.

<i>Candida</i> espezie	ChromID® <i>Candida</i>	CHROMagar <i>Candida</i> ®
<i>Candida albicans</i>	Urdina	Berdea
<i>Candida dubliniensis</i>	Urdina	Berdea
<i>Candida africana</i>	Urdina	Berdea
<i>Candida tropicalis</i>	Arrosa	Urdina
<i>Candida krusei</i>	Zuria	Arrosa
<i>Candida glabrata</i>	Zuria	Bioleta
<i>Candida guilliermondii</i>	Arrosa	Bioleta
<i>Candida parapsilosis</i>	Zuria	Bioleta

Teknika biokimikoen barnean, elikagaien asimilazio probek ebaluatzen dute onddoak karbono iturri bakarra gisa azukre desberdinak erabiltzeko gaitasuna. Hau metodo desberdinen bidez lortu daiteke, gaur egun erabilienak sistema automatizatuak izanik (Auxacolor®, API 20 C AUX®, Galeria ID32C eta abar) (Coronado-Castellote et al., 2013).

C. dubliniensis eta *C. albicans*-ek tubo germinalak eta klamidodokonidia eratzten dituztenez modu berdinean, hauek bereizteko metodo immunologiko eta genetikoak erabili behar izaten dira. Metodo hauek kandidiasi larria eta erasotzailea denean ere erabiltzen dira. Metodo immunologikoa paziente immunogabezietan eta lagin sakonak hartzea zaila denean erabiltzen da. Teknika genetikoek espezifikotasun eta sentsibilitate handia eskeintzen dute eta patogenoaren identifikazioa egin daiteke lehendik hazkuntzak prestatu gabe. Azido nukleikoen hibridazio eta anplifikazioa egiten dira diagnostiko molekularra egiteko. Teknikarik ezagunenak ELISA (*Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay*) eta PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dira (Coronado-Castellote et al., 2013).

Garrantzitsua da jakitea, *Candida*-ren kasuan, ahoan onddoa aurkitzeak ez duela adierazi nahi infekzioa dagoela, ahoko ohiko organismo komentsala delako. *Candida*

fase saprofitoan egon beharko da, beraz, lesio klinikoak sortzeko (Coronado-Castellote et al., 2013).

1.1.2. Tratamendua

Kandidiasien tratamendu farmakologikoa lau puntu garrantzitsuetan oinarritzen da: infekzioaren diagnostiko goiztiar eta zehatza egin; faktore baldintzagarri edo gaixotasunen zuzenketa; *Candida* motaren ebaluazioa; eta, antifungikoen erabilera egokia bakoitzaren eraginkortasun/toxizitate erlazioa aztertuz (Garcia-Cuesta et al., 2014).

Farmako antifungikoaren aukeraketa egitean kontutan hartu behar dira pazientearen egoera immunologikoa, aho kandidiasiaren ezaugarri espezifikoak (aurkezpen klinikoa, etiologia, antifungikoekiko sentsibilitatea, kokapen organikoa, zabalkundea) eta eskuragarri dauden antifungikoen ezaugarri farmakologikoak (administrazioa, metabolismoa, kanporatzea, beste farmakoekin elkarrekintzak eta toxikotasuna).

Farmako antifungiko erabilienak hiru familia edo taldetan sailkapetzen dira: polienoak (anfoterizina B eta nistatina), ekinokandinak (anidulafungina, kaspofungina eta mikafungina) eta azolak. Azkeneko familia hau handiena da eta beste bi azpitaldetan banatzen da: imidazolak (klotrimazol, mikonazol, ketokonazol eta abar) eta triazolak (flukonazol, isabukonazol, itrakonazol, posakonazol eta borikonazol).

Antifungiko topikoak infektatutako lekuan ematen dira eta azaleko infekzioak tratatzeko erabiltzen dira, mikosi ahulak eta ertainen tratamendurako, hain zuzen ere. Odontologian antifungiko topiko erabilienak nistatina (suspentsio eta pilula moduan) eta miconazol (gel moduan) dira. Hauek oso efektu kaltegarri gutxi eta arinak eragiten dituzte hauen xurgapena eta beste farmakoekin elkarrekintza mugatua delako. Topikoen eraginkortasuna ahoko mikosien tratamenduan lesio mota eta tamaina, farmakoaren ekintza mekanismoa eta formulazioaren ezaugarriaren menpekoa da. Sistemikoak, berriz, infekzioa zabalduago dagoenean errezetatzen dira eta topikoarekin konpodu ezin denean. Antifungikoak hainbat formulaziotan aurkitu daitezke merkatuan akzio terapeutikoa erraztu eta eraginkorrak izateko; hala nola, ahozko esekidurak, tabletak, pilulak, gelak, mukoatxikitze pipulak eta hortzetako pastetan (Quindós et al., 2019). Honez gain, aho higiena kontrolatzea garrantzitsua da, kandidiasi kasuak prebenitzeko. Klorhexidina edo hexetidina bezalako kolutorio

antibakteriano eta antiseptikoak erabiltzea gomendatzen da (Garcia-Cuesta et al., 2014).

Gaur egun, infekzio nosokomial guztien 4. kausa kontsideratzen da %10-rekin eta kandidiasi sistemikoengatik eragindako mortalitatea altua izaten jarraitzen du %15-35-rekin *Candida* espezieen menpekoa izanik. Eremu geografikoaren arabera, *C. albicans* ez diren beste espezieen intzidentzia ere desberdina dela ikusi da. Espezie hauek antimikotikoei erresistentzia garatzen dute eta hauek tratatzea zailagoa egiten da. Ikerketek diotenez, espezie horietatik erresistenteenak *C. glabrata* eta *Candida krusei* dira (Sadegui et al., 2018).

1.2. FAKTORE BALDINTZAGARRIAK

Onddoek eragindako infekzioen intzidentzia handitu egin da azkenengo hamarkadan, ohikoagoa izanik herrialde garatuetan. Intzidentzia honen gorakada faktore baldintzagarri batzuekin erlazionatu da (**3. Taula**). Kandidiasiaren garapena *Candida*-ren birulentzia faktoreen eta pazientearen baldintza klinikoaren arabera emango da (Garcia-Cuesta et al., 2014; Quindós et al., 2019).

3. Taula. Faktore baldintzagarriak. *Candida* intzidentziaren gorakadarekin erlazionatzen diren faktore baldintzagarriak.

ONDDOA	PAZIENTEA	
Birulentzia faktoreak	Lokalak	Sistemikoak
<ul style="list-style-type: none"> - Fenotipoa eta aldaketa morfologikoa (legamia-pseudohifa-hifa eraldaketa) - Hortzak eta mukosara atxikitzea, bakterioen koagregazioa eta biofilm-aren garapena - Proteinasak, fosfolipasak, beste lipasak - Immunomodulatzailleak - Antifungikoei erresistentzia 	<ul style="list-style-type: none"> - Aldaketa epitelialak - Ahoko higie urria - Dimentsio bertikalaren galera - Gaizki egokitutako protesiak - Xerostomia - Kortikoesteroide inhalatuak - Zahartzaroarekin erlazionatutako aldaketa anatomikoak 	<ul style="list-style-type: none"> - Arazo hormonalak - Arazo psikologikoak - Arazo immunologikoak - Xerostomia - Tabakoa - Alkohola - Leuzemia - Desnutrizioa - Kimioterapia antineoplasikoa - Erradioterapia - Kortikoesteroide sistemikoak - Espektru altuko antimikrobianoak - Psoriasis

Aurretik aipatu bezala, tratamenduaren zati garrantzitsu bat kandidiasia sortu edo eragiten duten faktoreak kentzean datza. Horregatik, benetazko erlazio independenterik dagoen gaixotasuna eta faktore hauen artean ikertu beharko litzateke (Garcia-Cuesta et al., 2014; Billings et al., 2017).

Xerostomia aho kandidiasiaren faktore eragiletako bat dela deskribatzen da (Garcia-Cuesta et al., 2014). Xerostomia sintoma subjektibo bat da eta pazienteak ahoa lehorragoa duen sentazioa izaten du. Honekin batera, ez da beti hiposalibazio bat ematen, hau da, ez da listu fluxu tasa baxuaren zeinurik izaten. Munduko xerostomiaren prebalentzia %17-29koa da gutxi gorabehera (Artico et al., 2014). Honen eragile nagusia farmako xerostomikoen erabilera dela ikusi izan da. Izan ere, aktibitate farmakologiko bat baino gehigo dituzten medikamentu orokorretako askok

xerostomia eragin dezakete bigarren efektu bezala. Xerostomia dagoela esateko, listu fluxua neurtu daiteke eta listu ez estimatuaren kantitatea $\leq 0,1-0,2$ ml/minutukoa bada, listu guruinen hipofuntzio bat dagoela esaten da, hau da, guruinak ez du behar bezainbeste funtzionatzen eta benetazko xerostomia sortzen du. Sialografia eta gammagrafia ere listu guruinen funtzioa aztertzeko erabili daitezke. Xerostomia desorosoa izaten da pazientearentzat eta kexa asko izaten dira beraien aldetik. Sintoma honen konplikazioak hainbat izan daitezke, ohikoenak txantxarra, protesia erabiltzeko zailtasunak edota *Candida*-gatik infekzioa. Adin ertaineko portzentai esanguratsu bati eragiten dionez xerostomiak, egoera hau ikertu eta irtenbide bat ematen saiatu behar da kalterik ez sortzeko. Xerostomiarentzako erremedioak paliatiboak izaten dira normalean, hau da, sintomak tratatzen dira eta eragin kaltegarriak prebenitzen saiatzen da (Guggenheimer et al., 2003; Torres et al., 2002).

Ingurumen faktoreak ere *Candida*-gatik sortutako infekzioak eragin dezake. Ikerketa batzuek frogatu dute tabakoaren keak biopelikula mikrobiarren eraketa sustatzen duela. Zehazki, *Streptococcus mutans* eta *C. albicans*-en arteko atxikimenduan eragiten du, eta horrek, hortzen zahar-berritze materialetan biopelikula sortzea dakar. Atxikimendua, hazkuntza eta biopelikularen eraketa hau gen batzuen menpe daudela ikusi izan da, HWP1, EAP1 eta SAP2 hain zuzen ere. Gen hauen gehikuntza bat ematen da tabakoaren kearen kontzentrazioa handitzean. Hori dela eta, tabakoa erretzen dutenek ahoko infekzioak jasateko aukera handiagoa dutela proposatu da, aho kandidiasia barne (Semlali et al., 2014).

Tabakismoa eta *Candida* spp. erlazionatzen dituzten artikulatu gutxi daude oraindik eta gero eta informazio gehiago badago ere, oraindik ez da ikertu tabakismoaren eragin patogeno zehatza ahoko kandidiasia sortzeko (Semlali et al., 2014).

2. HELBURUAK

Tabakoaren kontsumoa, ahoko kandidiasiak pairatzeko arrisku faktore bat dela erakutsi dute lan askok. Hala ere, honen inguruan eztabaidak daude. Bai kandidiasia sistemikoetan, bai aho kandidiasietan, nahiz eta *C. albicans* espezieak jarraitzen duen izaten gehien isolatutako agente etiologikoa, gero eta gehiago identifikatzen ari dira *Candida* generoko beste espezie batzuk; hauen artean, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* eta *C. tropicalis*. Erretzaileetan ere populazio orokorrean gertatzen den bezala, badirudi

Candida espezie bereziak egon daitezkeela parte hartzen aho kandidiasien patogenesisian. Beraz, gure lan honen helburuak hauek izan dira:

- Populazio erretzailean *Candida* kolonizazio gehiago dagoen aztertzea.
- Persona erretzaileetan *Candida* espezieen banaketan berezitasunik dagoen ez erretzaileekin alderatuz ikustea.

3. MATERIALAK ETA METODOLOGIA

3.1. PAZIENTEAK

Ikerketa hau, “PSIKODENT” ikerketaren barruan kokatzen da, zeinek Euskadiko Medikamenduen gaineko Ikerkuntza Batzorde Etikoak (CEIm) eta UPV/EHUko Klinika Odontologikoak onartu zuten. Guztira Leioako Klinika Odontologikoko (UPV/EHU) 40 pazienteak (21 erretzaile eta 19 ez erretzaile) parte hartu zuten ikerketa honetan.

3.1.1. Barneratze irizpideak

- Adina: 18 urte baino gehiagoko pazienteak
- Baimen informatua irakurri eta sinatua izatea
- Tabako erretzaile zein ez erretzailea izatea

Paziente guztiei ahoz eta idatziz azaldu zitzaizkien ikerketaren helburua, prozedura eta ondorioak zein izango ziren bakoitzak parte hartu edo ez erabaki zezan eta baimen informatua idatzizkoa izan zen. Parte hartzen zutenei historia klinikoa betetzeko galdeketa bat egiten zitzaizkien bakoitzaren adina, ahoko gaixotasunak eta sistemikoak, farmakorik hartzen zuten (administrazio bidea, dosia, posologia eta hasiera data), tabakoa eta alkoholaren kontsumizioa (eguneko kopurua eta noiztik hasi ziren), aho garbiketa (maiztasuna, materiala eta produktuak), protesien (finko edo erauzgarriak) erabilpena eta aho lehortasunari buruzko informazio gehigarria eduki genezan. Gainera, paziente guztiek informazio orria eta baimen informatuaren kopia bat eramaten zuten etxera (eranskinetan ikusgai datu bilketaren fitxa, baimen informatua eta informazio orria).

3.2. ESPLORAZIOAK

3.2.1. Materialak

- Ispilua
- Gasa esterilak
- 50 ml-ko tuboak
- 15 ml-ko tuboak
- Esterilizatutako inbutuak

3.2.2. Prozedura

3.2.2.1. Listu fluxuaren neurketa

Pazienteek 15 ml-ko tuboetara inbutuaren laguntzarekin ez estimulatutako listua bota behar zuten 5 minutuz listu fluxua aztertzeko. Ateratako emaitzarekin, minutu bakoitzean botatako listu kantitatea kalkulatu zen (Rech et al., 2019).

3.2.2.2. *Candida*-ren neurketarako lagina hartzea

50 ml-ko tuboan 25 ml ur destilatu aurkitzen ziren honekin aho iragazketa gauzatzeko minutu batean. Ondoren, berriro ontzi berera botatzen zuten inbutuaren laguntzaz *Candida*-ren hazkuntza eta identifikazioa aztertzeko.

3.3. CANDIDA-REN KUANTIFIKAZIOA ETA IDENTIFIKAZIOA LAGINETAN

3.3.1. Materialak

- Hazkuntza ingurune kromogenoa (ChromID® *Candida*).
- Kultibo-plakak.
- Pipetak.
- Erein-kirtenak.
- API® Suspentsio medium (Biomérieux).
- Inkubagailua (Memmert).
- Elektroforesi ekipoa (BIO-RAD).
- API irakurle (Biomérieux).

- Laborategiko zentrifuga (Allegra X-15 R Centrifuge. Beckman Coulter).
- Transilumidadora (ChemiDoc).

3.3.2. Prozedura

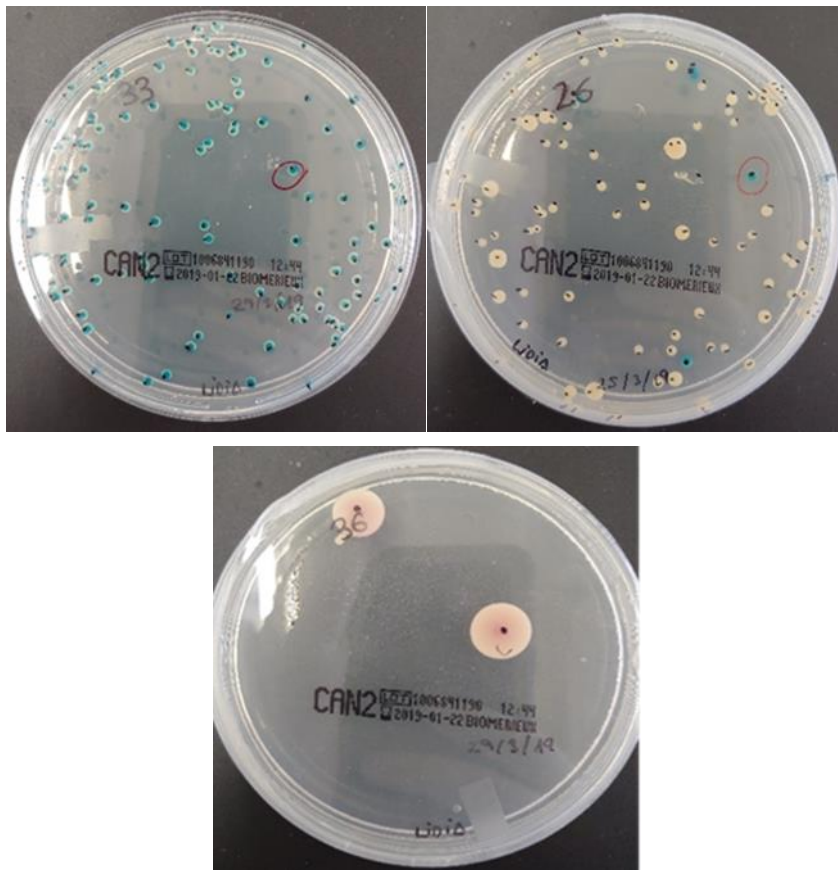
Behin laginak edukita, hartutako egunean bertan Mikologia Medikoko laborategira (Medikuntza eta Erizaintzako fakultatea, UPV/EHU) eramán ziren laginak aztertzeko. Horretarako, lehendik zentrifugan sartu ziren 21 °C-tan, 10 minutuz eta 4000 rpm potentziarekin zelulak ontziaren hondoa geratu eta bertatik prezipitatuak zelulak hartzeko. Hauek, ChromID® Candida plaketan erein ziren asa baten laguntzaz ingurune esterilizatu batean. Ondoren, berogailu batean sartu ziren 37 °C-tan *Candida* koloniak hazteko. 48 ordu igarota plakak aztertu ziren hazkuntzarik gertatu zen ikusteko. Hazkuntza gertatu bazen, kolonia eratzaille unitateko (CFU, *Colony Forming Units*) kontaketa egin zen eta kolonien koloreak kontuan hartu ziren behin behineko diagnostikoa egiteko.

Bi metodo erabili ziren *Candida* espezieen behin betiko identifikazioa egiteko:

3.3.2.1. Metodo biokimikoa, ID32C

Hazkuntza kromogenoan urdinak ez ziren espezieak (*C. albicans*, *C. dubliniensis* edo *C. africana* ez ziren espezieak) metodo biokimikoak erabiliz aztertu ziren (**1. Irudia**). Espezie bakoitzetik kolonia bat hartu zen esterilizatutako erein kirten batekin SDA-ean isolatzeko. Hazkuntza mota honetako bi plaka erabili ziren hainbat zatitan banatuz eta zati bakoitza paziente bati zegokion. Plaka hauek 24 orduz berogailu batean 37 °C-tan jarri ziren hazkuntza gertatzeko. Hurrengo egunean, hazkuntza eman zen guztietatik pixka bat hartu zen 2 ml-ko suspentsio medium-ean sartu eta 2,1-2,3 Mc Farland eman arte. Hemendik 250 µl hartu eta 7 ml-ko suspentsio medium-era pasatu ziren. Azkenik, azkeneko disoluzio honetatik 135 µl hartu ziren eta ID32C plakako putzu bakoitzean jarri ziren. Putzu bakoitzak karbohidrato deshidratatuko sustratua zeukan. Plaka hauek 30 °C-tan gorde ziren berogailu batean eta 24 eta 48 ordu pasata irakurri ziren Biomérieux®-eko miniApi ordenagailuaren laguntzaz. Mikroorganismoen identifikazioak ID32C software erabiliz egin ziren. ID32C plaketan *Candida* bakoitzak karbohidrato bakoitzarekin erreakzionatzen duen ala ez ikusi zen (**2. Irudia**), eta horren arabera, programa informatikoan, erreakzio positibo

eta negatiboak sartuz, espezie jakin bat izateko probabilitateak eman ziren portzentaietan.



1. Irudia. *Candida* espezieak ChromID® *Candida* hazkuntzan kromogenoan. Kolonia berdeak, txuriak eta arrosak ikus daitezke



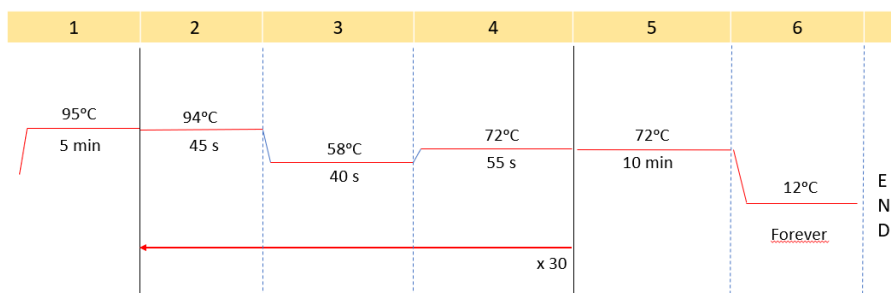
2. Irudia. ID32C plaka. Putzu bakoitzean *Candida* espezieak karbohidrato bakoitzekin emandako erreakzioa ikusten da. Erreakzio positiboak zuriz agertzen dira.

3.3.2.2. Metodo molekularra, PCR

Hazkuntza kromogenikoan urdinez agertu ziren espezieak PCR teknikarekin identifikatu ziren Romeo et al., (2008) lanean oinarrituz. Horretarako, erreakzio nahasketa prestatu zen ondorengo osagaiekin: BioMix® (Bioline, 8,8µl), CR Reverse 5'-GCACCTTCAGTCGTAGAGACG-3' eta CR Forward 5'-GCTACCACTTCAGAATCATCATC-3' zebadoreak (0,8µl bakoitza) eta ura (9,6µl). PRC egiteko, eppendorf ontzi bakoitzetara 20µl bota ziren. Pipeten puntekin kolonien zati txiki bat hartu zen eta bakoitza eppendorf ontzi batean ipini ziren aurretik egindako erreakzio nahasketarekin disolbatzeko. Aztertu nahi ziren laginaz gain, beste lau ontzi prestatu ziren nahasketa berdinarekin. Horietako hiruretan erreferentzia zepak ipini ziren (*C. albicans* SC5314, *C. dubliniensis* NCPF 3949 eta *C. africana* MYA2669) eta azkeneko ontzian negatibo markaitzailea (proba ondo atera zela adierazten duena).

Ontzi guztiak termoziklatzaile batean sartu ziren ADN-aren erreplikazioa emateko (3. Irudia). Pausu hauek eman ziren:

- 1- Hasierako desnaturalizazioa 95 °C, 5 min
- 2- Desnaturalizazioa 94 °C, 45 s
- 3- Hibridazioa 58 °C, 40 s, x 30 ziklo
- 4- Luzapena 72 °C, 55 s
- 5- Luzapenaren bukaera 72 °C, 10 min
- 6- Egonkortzea 12 °C



3. Irudia. ADN-aren erreplikazioaren pausuak.

Bitartean, agarosa gel-a %1-ean prestatu eta elektroforesi ekipoa sartu zen. Laginak Hyperladder® markatzailearekin nahasirik gelaren zulo txiki bakoitzean sartu ziren elektroforesia emateko 90V-tan eta 80-90 minutuz. Azkenik, gela transiluminatzaile batean ipini zen ordenagailuan emaitzak irakurtzeko. ADN-aren banden luzeraren arabera, *Candida* spp. bat edo bestea izango da: 1000 bp baditu, *C. albicans*, 700 bp baditu, *C. dubliniensis* eta 500 bp baditu, berriz, *C. africana*.

3.4. DATUEN ANALISIA ETA ESTADISTIKA

Emaitzak analizatzeko GraphPad Prism 7 (EEBB) programa erabili zen. Korrelazio analisiak egin ziren bildutako aldagaien arteko erlazioa aztertzeko. Mann–Whitney U testaren bidez aldagai kategorikoak eta zenbakizkoak alderatu ziren eta Chi-karratu testa erabili zen bi aldagai kategoriko konparatu nahi zenean. Alderatutako taldeen artean, aldagaien artean desbersintasan esanguratsua dela baieztatzeko $p < 0.05$ hartu zen.

4. EMAITZAK

Ikerketa honetan 40 gizon-emakumek parte hartu zuten. Hauetatik 22 emakumeak (%55) ziren eta 18 gizonak (%45). Adin tartea 22-76 bitartekoa izan zen, bataz bestekoa 45 urte izanik. Tabako erretzaileak 21 ziren (%52,5) eta 19 ez erretzaileak (%47,5). Gizon erretzaileak 11:10 izan ziren emakume erretzaileekin alderatuta, eta ez erretzaileen artean gizon kopurua 7:12-koa izan zen emakumeekiko. Listu fluxuari dagokionez, 5 pertsonak (%12,5) izan zuten hipojariapena ($\leq 0,1-0,2$ ml/min) eta gainontzeko 35 pertsonak (%87,5) ez zuten hipojariapenik erakutsi. Hipojariapena izan zutenetatik, %80-a gizonak izan ziren. Gaixotasun periodontala zuten 5 pazienteen artean, 4 erretzaileak ziren (**4. Taula**).

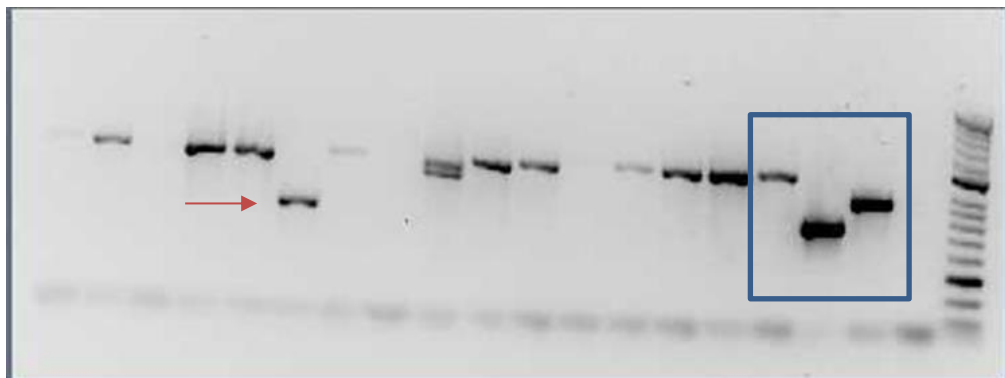
Parte hartu zuten pazienteen artean, 25 pertsonetan (%62,5) *Candida* kolonizazioa ikusi zen. Pertsona hauetatik %80ak *Candida* espezie bakarreko kolonizazioa izan zuten eta %20ak, aldiz, kolonizazio mistoak.

Espezierik ohikoena *C. albicans* izan zen, bai paziente erretzaile, bai ez erretzaileetan ere, kolonizazio bakar gisa (%75). Espezie mistoetan guztietan (%100) agertu zen *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata* eta *T. mucoides*-rekin batera. Erretzaileak eta ez erretzaileak zirenen artean, beste espezie batzuk ere kolonizatzaile bakarrak izan

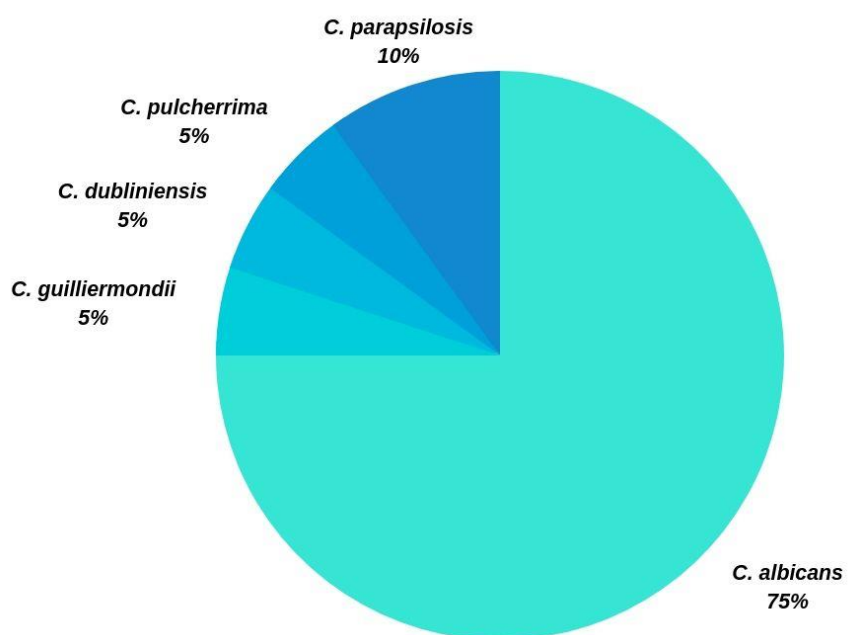
ziren; *C. parapsilosis* izan zen *C. albicans* ez den espezieetatik ohikoena (%10), eta *C. pulcherrima*, *C. guilliermondii* eta *C. dubliniensis* (**4. Irudia**) bakoitza %5ean agertu zen (**5. Irudia**). Bi espezie agertu zirenean (erretzaileetan batez ere), *C. albicans* eta *C. tropicalis* izan ziren gehien ikusi zirenak (%40) (**6. Irudia**).

4. Taula. Tabako erretzaile eta ez erretzaileetan ezaugarriak eta aldagai desberdinen prebalentzia.

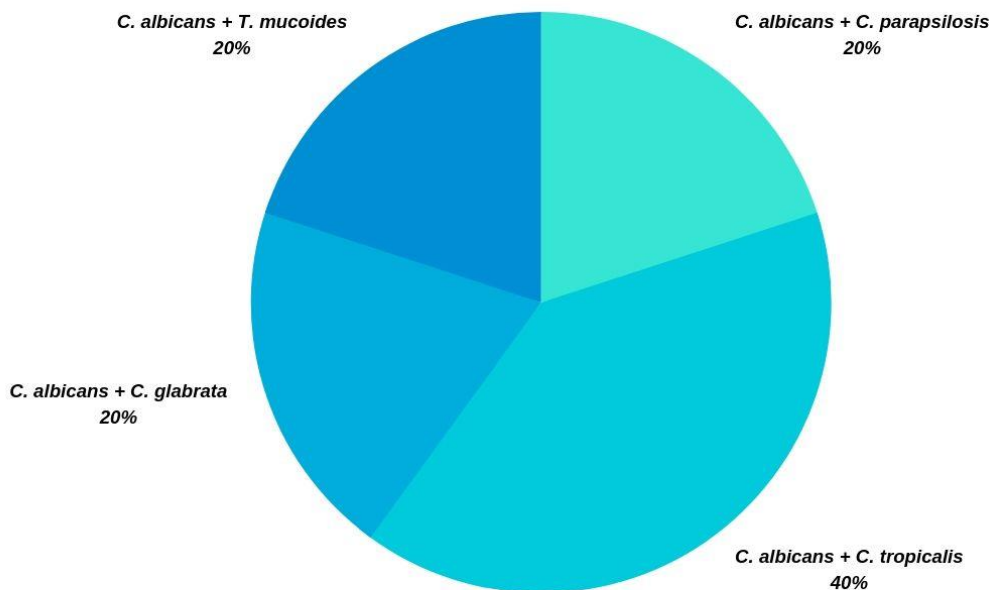
	ERRETZAILEAK	EZ ERRETZAILEAK
Gizon:Emakume	11:10	7:12
Bataz besteko adina (urte)	44	46
Listu fluxua ml/min	0,57± 0,21	0,42± 0,21
Gaixotasunak ahoan <ul style="list-style-type: none"> • Periodontitisa • Bruxismoa • Leukoplasia • Aftosia 	%19 (4/21) % 0 (0/21) % 0 (0/21) % 0 (0/21)	%5,3 (1/19) %16 (3/19) %5,3 (1/19) %5,3 (1/19)
CFU/ml	22,29± 38,6	23,63± 40,76
<i>Candida</i> aurkikuntza tasa	%76 (16/21)	%63 (12/19)
<i>Candida</i> espezieak (espezie bakarreko kolonizazioak) <ul style="list-style-type: none"> • <i>C. albicans</i> • <i>C. parapsilosis</i> • <i>C. pulcherrima</i> • <i>C. dubliniensis</i> • <i>C. guilliermondii</i> 	%24 (5/21) %9,5 (2/21) %5 (1/21) %5 (1/21) %0 (0/21)	%52,6 (10/19) %0 (0/19) %0 (0/19) %0 (0/19) %5,3 (1/19)
<i>Candida</i> espezieak (kolonizazio mistoak) <ul style="list-style-type: none"> • <i>C. albicans</i> + <i>C. glabrata</i> • <i>C. albicans</i> + <i>C. parapsilosis</i> • <i>C. albicans</i> + <i>C. tropicalis</i> • <i>C. albicans</i> + <i>T. mucoides</i> 	%5 (1/21) %0 (0/21) %9,5 (2/21) %5 (1/21)	%0 (0/19) %5,3 (1/19) %0 (0/19) %0 (0/19)



4. Irudia. PCR irakurketa *C. albicans*, *C. dubliniensis* eta *C. africana*-ren desberdintzea egiteko. Lauki barruko hiru espezieak erreferentzia zepak dira: *C. albicans*, *C. dubliniensis* eta *C. africana* hurrenez hurren. Bat ez ezik, *C. albicans* dira. Geziarekin markatutakoa *C. dubliniensis*.da.



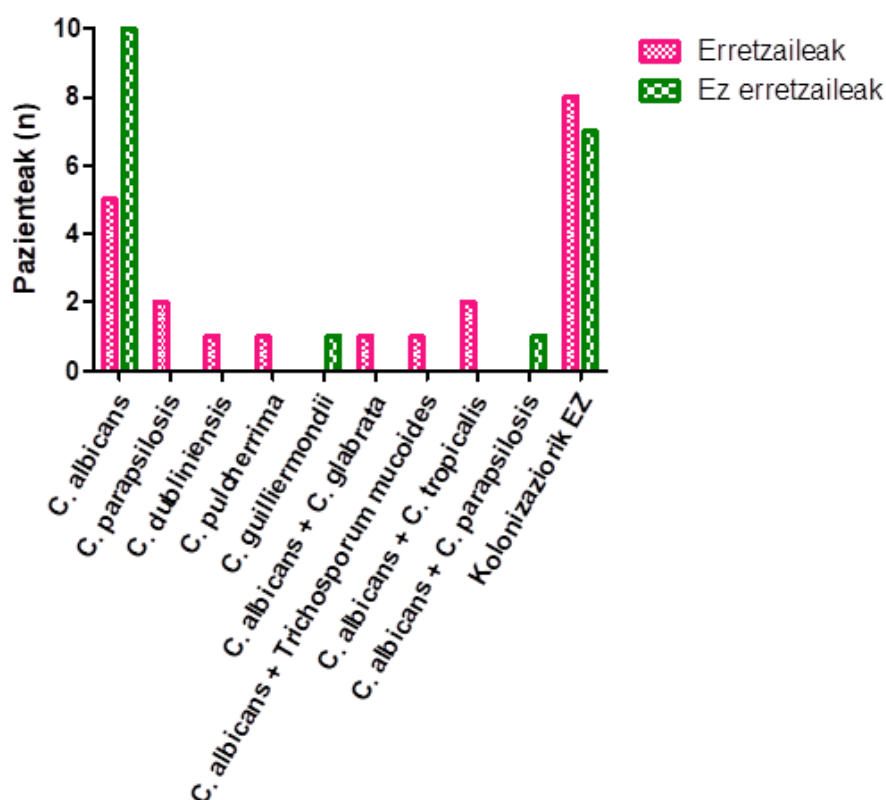
5. Irudia. *Candida* espezie bakarren kopuru totala. Erretzaile eta ez erretzaileak barne.



6. Irudia. *Candida* espezie mistoen kopuru totala. Erretzaile eta ez erretzaileak barne.

Mailakatu aldagaiak analizatu zirenean (erretzaile eta ez erretzaile vs kolonizazio bai edo ez; vs hipojariapena bai ala ez) ez zen desberdintasun esanguratsurik aurkitu. Gainera, aldagai kuantitatiboen arteko erlazioa aztertzerakoan, ez zen korrelaziorik aurkitu aztertutako aldagaien artean, besteak beste *Candida* kolonia erretzaile unitateen kantitatea eta listu fluxua; zigarro kopurua/egunean eta *Candida* kopurua alderatzekoan; zigarro kopurua/egunean eta listu fluxua. Alkohol eta kafearen kontsumoaren eragina ere analizatu ziren, korrelazio esanguratsurik aurkitu gabe *Candida*-ren identifikazio eta kantitaerekin.

Bestalde, tabako erretzaileen artean, *Candida* espezie mota gehiago zein kolonizazio mistoen joera handiagoa nabarmendu zen ez erretzaileekin alderatuz (**7. Irudia**).



7. Irudia. *Candida* espezieen banaketa. Erretzaile eta ez erretzaileetan.

5. EZTABAIDA

Kandidiasia gizakiengan ematen den mikosi oportunistak ohikoena da. Ahoko eta genitaleko mukosetako, larrualpeko eta azazkaleko gaixotasun ez larriak dira, eta gehienetan tratamendu farmakologikoekin desagertarazten dira. Sistemikoak edo inbasore diren kandidiasiak berriz, ez dira hain ohikoak baina gaixotasun larriak eta heriotza-tasa altuak sortarazten dituzte. Kandidiasi sistemikoak pairatzen dituzten pazienteek azpiko gaixotasun larriak, neutropenia edo babesba gutxitua izaten ohi dute eta sendatzea zailagoa izaten da (Quindós et al., 2018).

Aho kandidiasia, ahoko infekzio oportunistak ohikoenetarikoa da, *Candida* generoko espezieak sortutakoa, izan ere, *C. albicans* espeziea da infekzioen %95 kasuetan eragile patogeniko arduraduna. Maiztasun txikiagoarekin, beste espezie batzuk ere (*C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. dubliniensis* edo *C. guilliermondii*) sor ditzakete infekzio hauek, hauen tratamendua zailagoa izanik (Quindós et al, 2019). Izan ere, legami batzuetan erresistentzia handitzen dela ikusi da

flukonazol antifungikoa erabilia, batez ere *C. glabrata* eta *C. krusei* espezieetan (Sadeghi et al., 2018; Hertel et al., 2015; Abyaneh et al., 2014; Maranhão et al., 2013). Onddo hauen presentziak ahoan ez du esan nahi infekzioa egon behar denik, izan ere, giza aho mikrofloraren saprofito ohikoa da. Ahoko mikrobiomaren desorekaren ondorioz txantxarra, gaixotasun periodontalak eta kandidiasiak ager daitezke (Kilian, 2018). *Candida* kolonien (CFU) kopuru handiak, síntoma klinikoekin batera, lagunduko dute aho kandidiasiareneko diagnostikoa ematera.

Candida espezieen banaketa geografikoa ere ez dela homoginoa azaldu dute hainbat ikerketek. SENTRY eta ARTEMIS bezalako zaintza programa globalek datu asko eskeintzen dituzte kandidiasien aspektu desberdinen tendentzia mundialak zein diren adieraziz. Datu horietako batzuk *Candida* espezieen maiztasuna eremu geografiko desberdinetan, banaketa (mota eta adinaren arabera), eta, antifungikoei suszeptibilitatea alda daitezke erakusten dute. Espainia mailan ere FUNGEMYCA programak *Candida* espezieen banaketa geografikoa aztertu zuen eta *C. albicans*-en prebalentzia handiagoa zela ikusi zen, beste herrialdeetan bezala. Aldiz, bigarren espezierik isolatuena *C. parapsilosis* izan zen, ez beste herrialdeetan bezala, non *C. glabrata* bigarren espezierik ohikoena den. Probintzien artean ere desberdintasunak daudela ikusi zen (Pemán et al., 2012).

Kandidiasien arrisku faktoretako bat tabakoa dela adierazten da. Hainbat dira tabakoaren efektuak giza osasunean. Osasun publikoko arazo handienetako bat da, mundu mailan 6 milioi gizabanako hiltzen dira tabakoaren ondorioz (West, 2017). Espainian, bigarren substantzia psikoaktibo erabiliena da. Espainiar populazioaren laurdenak egunero erretzen duela adierazten du. *Asociación Española Contra el Cáncer* (AECC)-en arabera, 2018an populazioaren %25ak erretzen du, eta hauetatik %22,7k egunero. %26,1 erretzaile ohiak dira eta %48,8 ez erretzaileak. Sexuari dagokionez, gizonezkoak gehiago erretzen dutela ikusi da emakumeak baino, eta adinari begira, 24-54 urte bitartean aurkitzen dira erretzaile gehienak. Euskal Autonomia Erkidegoan %22,38 eta Nafarroan %22,85 erretzaileak dira. Tabakoa erretzea minbizia batzuekin ere erlazionatzen da, horietakoak ohikoenak laringekoa (%84), biriketakoa (%82), orofaringekoa (%49) eta ahokoa (%33) izanik (AECC, 2018).

Lan batzuk tabakoaren kontsumoa eta *Candida*-ren arteko erlazioa ikertu dute. Ikerketa honetan, *Candida*-ren kolonizazioa eta espezieen identifikazioa aztertu da UPV/EHU-ko Klinika Odontologikoko paziente erretzaile eta ez erretzaileetan. Gure emaitzetan ikusi denez, *Candida* kolonien kontaktak ez ziren aldatu paziente erretzaileak eta ez erretzaileak alderatuz. Hala ere, erretzaileen taldean *Candida* espezie kopurua handiagoa izan zen ez erretzaileetan baino, bai espezie bakarreko kolonizazioetan zein kolonizazio mistoetan. Javed et al., (2013) eta Oliver et al., (1984)-en ikerketan ere, *Candida* kopuruari dagokionez, ez zen erretzaile eta ez erretzaileen artean desberdintasun estadistiko esanguratsurik ikusi. Aldiz, Mun eta laguntzaileak persona erretzaileetan *Candida* kopurua zazpi aldiz handiagoa zela adierazi zuten (Mun et al., 2016). Akram et al., (2018), Sheth et al., (2016) eta Seifi et al., (2015)-ek ere, erretzaileetan *Candida*-ren kolonizazioa altuagoa zela ikusi zuen ez erretzaileetan baino. *Candida* espezieei dagokienez, gure lanean *C. albicans* ez diren espezie gehienak pertsona erretzaileetan antzeman ziren, bai espezie bakar moduan, bai espezie misto bezala. Hertel et al., (2016)-ren arabera, ordea, erretzailea izatea ez zen *Candida* espezie jakin batzuekin zuzenean erlazionatu. Bere ondorioetako bat erretzea independentea zela espezie eragilearekin izan zen. Javed et al., (2013)-ren lanean ere, paziente erretzaile eta ez erretzaileak alderatu zituzten murtxikatzeko tabako txikleak emanaz, eta ez zuten *Candida* espezieen banaketan berezitasunik ikusi erretzaile eta ez erretzaileen artean. Akram et al., (2018)-ek egindako ikerlanean, ez ziren espezie asko isolatu eta gehiengoan banaketa erretzaile eta ez erretzaileen artean berdintsua bazen ere, *C. parapsilosis*-en agerpena urrezko pipa eta tabakoa erretzaileetan bakarrik eman zen. Gure lanean ere, isolatutako bi *C. parapsilosis* espezieak, paziente erretzaileetan aurkitu ziren. Ahoko kandidiasiak, ahoko mikrobiotaren desoreken ondorioz ager daitezke. Honen prebentziorako, ezinbestekoa da aho higiene egokia mantentzea, arrisku faktoreak eta faktore abiarazleak saihestea, tabako kontsumoa, besteak beste.

Dena dela, gure lanean *C. albicans* izan zen gehien isolatu zen espeziea, bai espezie bakar moduan, bai beste espezieekin batera, paziente erretzaile zein ez erretzaileetan. Hau beste ikerlan askotan ere ikusi izan da (Akram et al., 2018; Sheth et al., 2016; Fawad et al., 2013; Shinozaki et al., 2012). Bigarren espezierik ohikoena *C. parapsilosis* izan zen, Torres et al., (2002) lanean bezala. Baita ere, gure ikerlanean

ikusi genuen kolonizazio misto gehienak erretzaileetan agertu zirela, beste kasu batzuetan gertatu den antzera (Akram et al., 2018). *C. albicans* eta *C. tropicalis* izan ziren gure ikerlanean gehien agertu zen konbinazioa, Mokeem et al., (2018) lanean bezala.

Bestalde, ondo deskribatuta dago listu hipojariapena eta kandidiasien arteko erlazioa, eta xerostomiadun pazienteetan ikusi da, bai UFC kopurua, bai espezie kopurua ere handituta daudela. Shinozaki et al., (2012)- ikerlanean erlazio zuzen-negatiboa aurkitu zuten xerostomia eta *Candida* kopuruaren artean, hau da, listu fluxua txikitzen doan heinean, *Candida* kopurua handitzen da. Gainera, ikerlan horretan ere ikusi zen aho kandidiasi motaren arabera, *Candida* espezie desberdinak isolatu zirela, eta xerostomiadun pazienteetan *Candida* espezie gehiago nabarmendu ziren. Gure ikerlanean, ordea, ez da ikusi erlazioerik *Candida* kolonizazio edo espezie banaketa eta listu jariapenaren artean. Hala ere, esan behar da, Shinozaki eta laguntzaileen lanean ez bezala, gure lanean, nahiz eta paziente batzuk listu fluxu txikiagoa izan, ez zirela xerostomia diagnostikodunak. Radfar et al., (2003) eta Torres et al., (2002)- lanaren arabera, listu fluxua eta *Candida* kontaktaren artean ez ziren bereiztasunik eman, ez eta listu fluxua eta *Candida* espezieen artean. Gure lanaren emaitzak Radfar (2003) eta Torres (2002)-ek egindako lanarekin bat datoz, ez bait genuen listu fluxua *Candida*-rekin, adinarekin edota sexuarekin erlazionatzea lortu.

Bestalde, lortutako *Candida* espezie desberdinetan oinarrituta, aipatzekoa da *C. pulcherrima* eta *C. dubliniensis* espezieen isolamendua. Lehenengoa, giza aho mikrofloran aurkitu daitekeen *Candida* espezie ez-ohikoa da. *C. pulcherrima*, *C. tropicalis* eta *C. guilliermondii* espezieek entzima-sistema induzitzaileak dituzte hidrokarburo aromatiko poliziklikoak erabiliz karbono eta energia moduan, erreplikatzeko aukera ematen dietenak (Bereczki et al., 2012; Oliver et al., 1984). Hidrokarburo aromatiko polizikliko hauek, nikotina eta beste substantzia kimiko toxiko askorekin batera tabakoaren osagai dira. Hidrokarburo aromatiko hauek bentzenoide eraztunez osatutako konposatuak dira, eta nikotinak bezala, *Candida*-ren proliferazioa erraztu dezaketela proposatu izan da (Mokeem et al., 2018; An et al., 2015). Hori dela eta, ez litzateke arraroa pentsatzea erretzaileetan *Candida* espezie hauen presentzia eta kolonien hazkuntza handiagoa izango litzatekeela ez erretzaileetan baino. *C. dubliniensis*, berriz, *C. albicans* espeziearekin estuki

erlazionatuta dago, ezaugarri fenotipikoak eta batzuetan genetikoak ere elkarbanatzen bait dituzte. Hasiera batean *C. dubliniensis* Giza Immunoeskasiaren Birusa (GIB)/HIESA-rekin infektatutako pazienteetan aurkitu bazen ere, espezie hau gero eta gehiago ikusten ari da kandidemia, diabetesa, beste gaixotasunak edota osasuntsu dauden pertsonetan. *C. glabrata* eta *C. krusei* bezala, espezie honek ere farmako azolikoei erresistentzia eduki dezakela adierazi da, flukonazolari batez ere (Abharian et al., (2018). Hori dela eta, nahiz eta espezierik ohikoena *C. albicans* den, garrantzitsua da espezie bakoitzaren identifikazio zehatza eta egokia egitea, antifungikoenganako erresistentziak saihestu eta dagokion espeziearen tratamendu espezifiko eta eraginkor bat emateko. Hala ere, ahoko kandidiasi gehienetan, pazientearen egoera immunologikoa egokia baldin bada, emaitza onak lortzen dira mikonazol edo nistatina topikoak emanez.

Honez gain, ahoko kandidiasia, minbizia eta beste gaixotasun batzuekin erlazionatu den bezala, periodontitisarekin ere egin izan da. De-La-Torre et al., (2018)-ikerlanean, periodontitis kronikoaren larritasuna eta UFC-ren korrelazio positiboa ikusi zen, zenbat eta larriagoa gaixotasuna, *Candida* kopurua ere handiagoa bait zen. Da Cruz et al., (2016)-lanean ere, periodontitisa zeukaten pazienteetan hortzoi azpiko plakatik isolatutako *C. albicans* gehiago atxiki zen zelula epitelialetara paziente osasuntsuetan baino. Gure lanean, nahiz eta gaixotasun periodontala aztertzea ez den izan helburuetako bat, apiagarria da, periodontitisdun paziente gehiago egon zirela erretzaileen artean.

Azkenik, lan honen mugen artean, erabilitako paziente kopurua aipatu behar da. 40 pazienteko lagin tamainarekin, lortutako emaitzak kontuz interpretatu behar dira.

6. ONDORIOAK

- Ez zen paziente erretzaile eta ez erretzaileen artean *Candida* kopuruan desberdintasunik ikusi.
- Ez zen paziente erretzaile eta ez erretzaileen artean listu fluxuari dagokionez, bereiztasunik ikusi.
- Paziente erretzaileetan *Candida* espezie gehiago isolatu ziren ez erretzaileetan baino.

7. BIBLIOGRAFIA

1. An, T. V., Kenneth, M. T., Holman, M. R., Ding, Y. S., Hearn, B., et al. Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in the Mainstream Smoke of Popular U.S. Cigarettes. *Chemical Research in Toxicology*. 2015;28:1616-1626
2. Asociación Española Contra el Cáncer (AECC) 2018
3. Akram, Z., Al-Kheraif, A. A., Kellesarian, S. V., Vohra, F., Javed, F. Comparison of oral *Candida* carriage in waterpipe smokers, cigarette smokers, and non-smokers. *Journal of Oral Science*. 2018;60:115-120
4. Artico, G., Freitas, R.S., Santos Filho, AM., Benard, G., Romiti, R., Migliari, DA. Prevalence of *Candida* spp., xerostomia, and hyposalivation in oral lichen planus- A controlled study. *Oral Diseases*. 2014;20:36-41
5. Bereczki, L., Bartha, N., Kocsubé, S., Sóki, J., Lengyel, GY., et al. Fungaemia caused by *Candida pulcherrima*. *Medical Mycology*. 2012;50:522-524
6. Billings, M., DDS, MPH, PhD, Dye, B. A., MPH et al. Elucidating the Role of Hyposalivation and Autoimmunity in Oral Candidiasis. *Oral Diseases*. 2017;23:387-394
7. Coronado-Castellote, L., Jiménez-Soriano, Y. Clinical and microbiological diagnosis of oral candidiasis. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*. 2013;5:279-286
8. Da Cruz, G. A., Camargo, G., Latini, MG., Dos Santos, R., De Farias, L., Duque, C. Prevalence of periodontopathogens and *Candida* spp. in smokers after nonsurgical periodontal therapy – a pilot study. *Brazilian Oral Research*. 2016. Doi: 10.1590/1807-3107BOR-2016.vol30.0092
9. De-La-Torre, J., Quindós, G., Marcos-Arias, C., Marichalar-Mendia, X., Gainza, M. L., Eraso, E. et al. Oral *Candida* colonization in patients with periodontitis. Is there any relationship? *Revista Iberoamericana de Micología*. 2018;35:134-139
10. Garcia-Cuesta, C., Sarrión-Pérez, M. G., Bagán, J. V. Current treatment of oral candidiasis: A literatura review. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*. 2014;6:576-582

11. Guggenheimer, J., Moore, P.A. Xerostomia: etiology, recognition and treatment. *Journal of the American Dental Association*. 2003;134:61-69
12. Hassani, P., Dehghan, P., Tolouei, S. Molecular characterization of *Candida dubliniensis* and *Candida dubliniensis* in the oral cavity of drug abusers using duplex polymerase chain reaction. *Current Medical Mycology*. 2018;4:12-17
13. Hertel, M., Schmidt-Westhausen, A.M., Strietzel, FP. Local, systemic, demographic, and health-related factors influencing pathogenic yeast spectrum and antifungal drug administration frequency in oral candidiasis: a retrospective study. *Clinical Oral Investigations*. 2016;20:1477-1486
14. Javed, F., BDS, PhD, Yakob, M., RDH, Ahmed, H. B., et al. Oral *Candida* carriage among individuals chewing betel-quid with and without tobacco. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*. 2013;116:427-431
15. Kilian M. The oral microbiome: friend or foe? *European Journal of Oral Sciences* 2018;126:5-12
16. Maranhão, G., Guimarães, M., Plinio, W., Ferreira, L. B., Maciel, L. A., Fernandes, M. A., et al. Species Distribution and Virulence Factors of *Candida* spp. Isolated from the Oral Cavity of Kidney Transplant Recipients in Brazil. *Mycopathologia*. 2013;175:255-263
17. Millsop, J.W., MD, MS, Fazel, N., MD, DDS. Oral Candidiasis. *Clinics in Dermatology*. 2016;11:487-494
18. Mokeem, S. A., Abduljabbar, T., Al-Kheraif, A. A., Mohammed, N., Alasqah, Michelogiannakis, D., Samaranayake, L. P., et al. Oral *Candida* carriage among cigarette- and waterpipe- smokers, and electronic cigarette users. *Oral Diseases*. 2019;25:319-326
19. Montelongo-Jauregui, D., Lopez-Ribot, J. L. Candida Interactions with the Oral Bacterial Microbiota. *Journal of Fungi*. 2018;4:122 Doi: 10.3390 / jof4040122.
20. Mun, MSS., Yap, T., Alnuaimi, AD., Adams, GG., McCullough, MJ. Oral candidal carriage in asymptomatic patients. *Australian Dental Journal*. 2016;61:190-195

21. Oliver, D. E., Shillitoe, E. J. Effects of smoking on the prevalence and intraoral distribution of *Candida albicans*. *Journal of Oral Pathology*. 1984;13:265-270
22. Patton, LL. Oral lesions associated with human immunodeficiency virus disease. *Dental Clinics of North America*. 2013;57:673-698
23. Pemán, J., Cantón, E., Quindós, G., Eraso, E., Alcoba, J., Guinea, J., Merino, P., Ruiz-Pérez-de-Pipaon, M. T., Pérez-del-Molino, L., Linares-Sicilia, M. J., Marco, F., García, J., Roselló, E. M., Gómez-G-de-la-Pedrosa, E., Borrell, N., Porras, A., Yagüe, G. FUNGEMYCA Study Group. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2012;67:1181-1187.
24. Pfaller, M. A. Jones, R. N., Dorn, G. V., Sader, H. S., Hollis, R. J., Messer, S. A. International Surveillance of Bloodstream Infections Due to *Candida* Species: Frequency of Occurrence and Antifungal Susceptibilities of Isolates Collected in 1997 in the United States, Canada, and South America for the SENTRY Program. *Journal of Clinical Microbiology*. 1998;36:1886-1889
25. Quindós, G., Gil-Alonso, S., Marcos-Arias, C., Sevillano, E., Mateo, E., Jauregizar, N., et al. Therapeutic tools for oral candidiasis: Current and new antifungal drugs. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal*. 2019;24:72-80
26. Quindós, G., Marcos-Arias, C., San-Millán, R., Mateo, E., Eraso. The continuous changes in the aetiology and epidemiology of invasive candidiasis: from familiar *Candida albicans* to multiresistant *Candida auris*. *International Microbiology*. 2018;21:107-119
27. Radfar, L., Shea, Y., Fischer, S.H., Sankar, V., Leakan, R.A., Baum, B.J., et al. Fungal load and candidiasis in Sjögren´s syndrome. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*. 2003;96:283-287
28. Razzaghi-Abyaneh, M., Sadeghi, G., Zeinali, E., Alizae, M., Shams-Ghahfarokhi, M., Amani, A. et al. Species distribution and antifungal suseptibility of *Candida* spp. isolated from superficial candidiasis in outpatients in Iran. *Journal de Mycologie Médicale*. 2014;24:43-50

29. Rech, R. S., Neves, F., Do Narcimento, L. H., Balbinot, J. Factors associated with hyposalivation and xerostomia in older persons in South Brazil. *Gerodontology*. 2019;00:1-7
30. Romeo, O., Criseo, G. First molecular method for discriminating between *Candida africana*, *Candida albicans*, and *Candida dubliniensis* by using *hwp1* gene. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2008;62:230-233
31. Sadeghi, G., Ebrahimi-Rad, M., Mousavi, S. F., Shams-Ghahfarokhi, M., Razzagui-Abyaneh, M. Emergence of non-*Candida albicans* species: Epidemiology, phylogeny and fluconazole susceptibility profile. *Journal de Mycologie Médicale*, 2018;28:51-58
32. Samaranayake, L. P., Keung, W., Jin, L. Oral mucosal fungal infections. *Periodontology 2000*. 2009;49:39-59
33. Seifi, S., D.D.S., Feizi, F., Ph.D., Mehdizadeh, M., Khafri, S., et al. Evaluation of Cytological Alteration of Oral Mucosa in Smokers and Waterpipe Users. *Cell Journal*. 2014;15:302-309
34. Semlali, A., Killer, K., Alanazi, H., Chmielewski, W., Rouabhia, M. Cigarette smoke condensate increases *C. albicans* adhesion, growth, biofilm formation, and EAP1, HWP1 and SAP2 gene expression. *BMC Microbiology*. 2014. Doi: 10.1186 / 1471-2180-14-61
35. Sharon V, Fazel N. Oral candidiasis and angular cheilitis. *Dermatologic Therapy*. 2010;23:230-242
36. Sheth, C. C., Makda, K., Dilmahomed, Z., González, R., Luzi, A., Jovani-Sancho, M. M. Alcohol and tobacco consumption affect the oral carriage of *Candida albicans* and mutans streptococci. *Letters in Applied Microbiology*. 2016;63:254-259
37. Shinozaki, S., Moriyama, M., Hayashida, J-N., Tanaka, A., Maehara, T., et al. Close association between oral *Candida* species and oral mucosal disorders in patients with xerostomia. *Oral Diseases*. 2012;18:667-672
38. Torres, S., DDS, MSc, Bernardo, C., Manhães, D., Barboza, E., et al. Relationship between salivary Flow rates and *Candida* counts in subjects with xerostomia. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology*. 2002;93:149-154

39. West, R. Tobacco smoking: Health impact, prevalence, correlates and interventions. *Psychology Health and Medicine*. 2017;32:1018-1036

8. ERANSKINAK



Hoja de información al paciente

Título del estudio: Estudio de la relación entre la prevalencia de *Candida spp.*, y el tabaquismo y el flujo salival

Estimado paciente:

Por favor, lea detenidamente esta hoja informativa y no dude en preguntar si hay algo que no está claro y/o desea más información del estudio. Antes de que acepte participar en este estudio, es importante que comprenda por qué se realiza y lo que implica.

Somos odontólogos, profesores y una estudiante de odontología de la Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU) y le informamos que estamos realizando un estudio para tratar de determinar cómo puede afectar el hábito de fumar tabaco y la sequedad de boca (xerostomía) sobre la infección por el hongo *Candida* en la cavidad bucal.

- 1. Le estamos pidiendo que participe en un estudio**
- 2. Usted puede elegir participar o no en el estudio**
- 3. Su atención médica no cambiará de ninguna manera si dice que no**

¿Qué tendré que hacer si digo “sí, quiero participar en el estudio?”

Si decide participar en el estudio, y una vez firmado su consentimiento, le haremos una serie de preguntas y le tomaremos una muestra de saliva de su boca. Además, le pediremos que escupa saliva en un frasco, para que podamos medir la cantidad de saliva. Se trata de una prueba nada invasiva ni molesta, y que en ningún caso afectará al procedimiento odontológico que ha motivado su asistencia a la Clínica Odontológica.

La muestra de saliva tomada será remitida para su diagnóstico diferencial al laboratorio de Micología Clínica del Departamento de Inmunología, Microbiología y Parasitología de la UPV/EHU. Estas muestras se gestionarán de acuerdo al protocolo aprobado por el Comité de Ética de la UPV/EHU, cumpliendo en todo momento la normativa de Protección de Datos. En cualquier caso, las muestras se destruirán al finalizar el estudio.

¿Cuáles son los riesgos a los que me sometería si digo “sí, quiero participar en el estudio?”

No tendrá riesgo adicional diferente al que de por sí tiene con su enfermedad, ya que su tratamiento y cuidado no cambiará en modo alguno por motivos relacionados con su participación en el estudio.

¿Qué pasa si digo “no quiero participar en el estudio?”

No ocurrirá nada. La atención que recibirá de su médico y enfermera no cambiará en absoluto.

¿Quién tendrá acceso a mis datos?



Toda la información que se obtenga en el estudio será confidencial y se conservará en documentos en papel y/o electrónicos. Para proteger su intimidad, no se recogerán sus datos personales y la información referente a usted se identificará con un código numérico, procediéndose a su disociación de manera que sólo los investigadores podrán relacionar dichos datos con usted y su historia clínica. En la publicación de los resultados, su identidad permanecerá confidencial.

En todo momento los datos se manejaran de acuerdo al Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de abril de 2016, relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales por la cual, los sujetos del estudio podrían ejercer los derechos de acceso, modificación, oposición y cancelación de datos, dirigiéndose a las investigadoras principales del estudio.



Consentimiento informado para el/la paciente

Título del estudio Estudio de la relación entre la prevalencia de *Candida spp.*, y el tabaquismo y el flujo salival

Nombre y apellidos del clínico que solicita el consentimiento:

Teléfono del clínico que lo solicita: _____

Yo, (nombre y apellidos) _____

Manifiesto que he sido informado/a del presente estudio y:

- He leído y entendido la hoja de información que se me ha entregado
- He podido hacer preguntas sobre el estudio
- He recibido suficiente información sobre el estudio
- Comprendo que mi participación es voluntaria
- Comprendo que puedo retirarme del estudio:
 - Cuando quiera
 - Sin tener que dar explicaciones
 - Sin que este repercuta en mis cuidados médicos
- Comprendo que mi participación en el estudio no conlleva ningún perjuicio para mi salud
- He sido informado/a de que mis datos personales serán protegidos, que los resultados de mi evaluación personal serán estrictamente confidenciales y que las muestras serán destruidas al final del estudio

Tomando esto en consideración:

- ACEPTO PARTICIPAR en el estudio y a que mis datos puedan ser utilizados con fines de investigación
- NO ACEPTO PARTICIPAR en el estudio y a que mis datos puedan ser utilizados con fines de investigación

**Recibiré una copia firmada de la Hoja de información al paciente y del consentimiento informado*

Firma del participante en el estudio

Fecha: ___/___/___
Día Mes Año

Nombre del Investigador que obtiene el consentimiento:

Firma del investigador que obtiene el consentimiento

Fecha: ___/___/___
Día Mes Año



Hoja de recogida de datos

Título del estudio Estudio de la relación entre la prevalencia de *Candida spp.* y el tabaquismo y el flujo salival

CÓDIGO				
---------------	--	--	--	--

1. Datos personales:

Sexo: M V

Edad: _____ años

Enfermedades sistémicas: SI NO

¿Cuáles? _____

Patología oral : SI NO

¿Cuáles? _____

¿Toma medicación actualmente? (vía de administración, dosis, posología)

FARMACO	VÍA DE ADMINISTRACIÓN	DOSIS	POSOLOGIA	FECHA DE INICIO

Hábitos tóxicos: Tabaco _____ Cigarrillos/día (desde hace _____ años/meses)

Bebidas alcohólicas _____ Unidades/día o unidades/semana

Otros hábitos: Bebidas Azucaradas _____ Bebidas/día o bebidas/semana

Café _____ Bebidas/día o bebida/semana

Hábitos de higiene dental:

Cómo considera su salud bucal: BUENA REGULAR MALA

Cepillado: _____ cepillados/día o _____ cepillados/semana

En su higiene dental utiliza de manera habitual:



- Cepillo de dientes con pasta fluorada (Marca:_____)
- Seda dental
- Cepillos interproximales
- Colutorios fluorados (Marca:_____)
- Colutorios antisépticos (Marca:_____)

Prótesis dentales: SI (Fija removible NO

Visitas al dentista: ¿Cuándo fue al dentista por última vez?

- En los últimos 6 meses
- En el último año
- En los últimos 2 años
- En los últimos 5 años
- Hace más de 5 años
- No lo recuerda

¿Tiene sensación de malestar bucal? SI NO

¿Tiene la sensación de que tiene la boca seca? SI NO