

Factores de virulencia y su efecto sobre la sensibilidad a los fármacos antifúngicos de *Candida albicans* causante de vulvovaginitis candidiásica recurrente.

Xiomara Moreno-Calderón^{1,2}, Angie Cantero-Akvarado³, María G. Vivas-Parababire⁴,
María M. Panizo-Domínguez⁵

¹Departamento de Microbiología. Instituto Médico La Floresta, Caracas-Venezuela.

²Departamento de Microbiología. Cátedra de Bacteriología. Facultad de Medicina, Escuela de Bioanálisis. Universidad Central de Venezuela, Caracas-Venezuela.

³Veneurgencias CA, Laboratorio. Caracas-Venezuela.

⁴Departamento de Virología. Laboratorio de Pruebas Especiales Hepatitis y SIDA. Instituto Nacional de Higiene “Rafael Rangel”, Caracas, Venezuela

⁵Cátedra de Salud Pública, Escuela de Bioanálisis. Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela, Caracas-Venezuela.

Palabras clave: *Candida albicans*; Vulvovaginitis; Virulencia; Susceptibilidad; Fluconazol; Voriconazol; Anfotericina B.

Resumen. La vulvovaginitis candidiásica (VVC) recurrente es causada principalmente por *Candida albicans*. Se valoró la actividad de fosfolipasas, proteasas, hemolisinas y biopelículas como factores de virulencia en *C. albicans* causante de VVC recurrente y sus efectos en la sensibilidad a los antifúngicos a fin de aportar en el conocimiento de los factores de virulencia y su influencia sobre la sensibilidad a los antifúngicos. Se analizaron 22 cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes con VVC recurrente que acudieron al Departamento de Microbiología del Instituto Médico La Floresta, Caracas-Venezuela, desde julio 2023 hasta junio de 2024. Se determinó la actividad de fosfolipasas, proteasas, hemolisinas y la formación de biopelículas, así como el perfil de sensibilidad por concentración mínima inhibitoria para fluconazol, voriconazol y anfotericina B por Vitek 2 Compact® mediante la tarjeta ASTYSO1®. El 100% de las cepas produjeron hemolisinas, 77% presentó actividad fosfolipasa y el 27,3% expresó proteasas. El 82% de las cepas tuvo capacidad de formar biopelículas. El 82% de las cepas fueron resistentes a fluconazol, 73% presentó resistencia a voriconazol y el 100% fue sensible a anfotericina B. No hubo relación estadísticamente significativa entre los tres fármacos ensayados con los factores de virulencia estudiados. Los factores de virulencia participan en las diferentes etapas de la infección y se asocian al cuadro clínico de la VVC recurrente, pero son variables independientes al perfil de sensibilidad antifúngica.

Virulence factors and their effect on antifungal sensitivity of *Candida albicans* causing recurrent vulvovaginal candidiasis.

Invest Clin 2026; 67 (1): 45 – 56

Keywords: *Candida albicans*; Vulvovaginitis; Virulence; Susceptibility; Fluconazole; Voriconazole; Amphotericin B.

Abstract. Candidal vulvovaginitis (CVV) is mainly caused by *Candida albicans*. The activities of phospholipases, proteases, hemolysins, and biofilms were evaluated as virulence factors in *C. albicans* causing recurrent CVV, and their effects on antifungal susceptibility were assessed to understand their influence on antifungal sensitivity. A total of 22 *C. albicans* strains isolated from patients with recurrent CVV who attended the Microbiology Department of the La Floresta Medical Institute, Caracas–Venezuela, from July 2023 to June 2024 were analyzed. Phospholipase, protease, and hemolysin activity, along with biofilm formation and the minimum inhibitory concentration (MIC) susceptibility profiles for fluconazole, voriconazole, and amphotericin B, were determined using the Vitek 2 Compact® assay with the AST-YSO1® card. All strains produced hemolysins; 77% exhibited phospholipase activity, and 27.3% expressed proteases. 82% were capable of forming biofilms. Resistance rates were 82% for fluconazole and 73% for voriconazole; all strains were susceptible to amphotericin B. There was no statistically significant relationship between the three drugs tested and the virulence factors studied. Virulence factors are independent variables in the antifungal susceptibility profile but participate in different stages of infection and are associated with the clinical presentation of CVV.

Recibido: 18-08-2025 *Aceptado:* 29-01-2026

INTRODUCCIÓN

Entre las causas más comunes de asistencia a la consulta ginecológica se encuentra la vulvovaginitis, observándose actualmente una elevada incidencia de esta infección causadas por levaduras del género *Candida* ¹.

La vulvovaginitis candidiásica (VVC) es una infección común del aparato reproductor femenino, causada principalmente por el hongo polimórfico complejo *Candida. albicans*, que forma parte de la microbiota humana habitual, por lo que suele colonizar el canal vaginal sin producir síntomas. Sin embargo, puede actuar como patógeno oportu-

nista bajo ciertas condiciones al alterarse el ambiente vaginal, favoreciendo el crecimiento excesivo del hongo ^{2,3}, entre otras causas se describen los cambios de pH, alteración en el metabolismo de carbohidratos, tratamiento con antimicrobianos y/o corticosteroides, embarazo e inmunodeficiencias ^{4,5}.

La VVC es la infección por *Candida* spp. con mayor prevalencia y se estima que afecta aproximadamente al 75% de la población femenina por lo menos una vez en su vida ². Los principales síntomas incluyen ardor, dolor, prurito, enrojecimiento de la vulva y presencia de flujo vaginal grumoso; éstos suelen intensificarse durante la etapa premenstrual, cuando se incrementa la acidez en la vagina ^{2,3,6}.

La virulencia de *Candida albicans*, específicamente la capacidad de formar micelio verdadero, producir enzimas hidrolíticas y biopelículas, contribuyen a la adherencia y posterior invasión y persistencia en el epitelio vaginal ^{1,7}, lo que incide negativamente en el bienestar de las mujeres con VVC ^{6,8,9}. Por lo tanto, con la finalidad de disminuir el malestar ocasionado por los síntomas de la infección, lo más común es que se suministre tratamiento de forma empírica, sin realizar el estudio microbiológico que incluya toma de la muestra, cultivo y pruebas de sensibilidad a los antifúngicos. El fluconazol se utiliza usualmente como primera opción de tratamiento, no obstante, la exposición prolongada a este antifúngico ha sido un factor desencadenante para el desarrollo de la resistencia, lo cual se traduce en falla terapéutica y episodios recurrentes de la infección observados en la actualidad ¹⁰⁻¹².

Con lo anteriormente descrito, nos preguntamos si existe relación entre la expresión de factores de virulencia en cepas de *C. albicans* y la alteración del perfil de sensibilidad a los principales antifúngicos utilizados para tratar la vulvovaginitis candidiásica recurrente. En Venezuela se han realizado investigaciones sobre la expresión de los factores de virulencia de *C. albicans*, en especial de las enzimas proteolíticas, lipasas y la capacidad de formar biopelículas ^{1,13}. Sin embargo, son escasos los estudios que se han centrado en investigar la posible influencia de estos factores en la expresión de la sensibilidad o resistencia a los antifúngicos. El propósito de este trabajo fue valorar la actividad de fosfolipasas, proteasas, hemolisinas y biopelículas como factores de virulencia y sus efectos en la sensibilidad a los antifúngicos en *C. albicans* causante de vulvovaginitis candidiásica recurrente.

MATERIALES Y MÉTODOS

Estudio descriptivo, prospectivo y transversal con una muestra finita, intencional y no probabilística, conformada por 22 cepas

de *C. albicans* aisladas de pacientes con VVC recurrente que acudieron al Departamento de Microbiología del Instituto Médico La Floresta Caracas-Venezuela, solicitando cultivo de secreción vaginal y cepas provenientes de Clínica El Ávila, Clínica Santa Sofía y Centro Médico Docente La Trinidad, aisladas de pacientes con VVC recurrente que fueron derivadas para verificación de su identificación taxonómica y pruebas de sensibilidad a los antifúngicos, durante julio 2023 hasta junio 2024.

La investigación cumple con los principios bioéticos establecidos en la Declaración de Helsinki y en las Directrices Internacionales para la Investigación Médica de la Organización Mundial de la Salud. Se obtuvo el consentimiento informado de los participantes y se mantuvo la confidencialidad de los datos. La investigación fue aprobada por el Comité de Bioética de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad Central de Venezuela.

Identificación de las cepas

Los aislados identificados como complejo *Candida albicans* fueron preservados en agua destilada por Método de Castellani ¹⁴ y guardados a temperatura ambiente hasta el momento de realizar el estudio experimental. Posteriormente estos aislados se inocularon en agar Sabouraud dextrosa (ASD, Oxoid®-USA) y se incubaron durante 24-48 h a 35 °C, para constatar su viabilidad y pureza. La identificación taxonómica se realizó mediante pruebas fenotípicas como resistencia a la cicloheximida (agar Mycosel, Oxoid®), producción de pigmento en agar cromógeno (CHROMagar, Oxoid®), visualización de la morfología microscópica en agar harina de maíz e identificación automatizada mediante el equipo Vitek 2 Compact® (bioMérieux, Marcy-l'Étoile, Francia).

Determinación de la actividad de la fosfolipasa

La actividad de la fosfolipasa se determinó por el método semicuantitativo en placa de ASD suplementado con yema de huevo (AS-

DYH) descrito por Echeverría *et al.*¹⁵. Cada cepa de *C. albicans* fue inoculada en lugares distantes del medio por triplicado e incubada a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. Posterior a su crecimiento, se midió con una regla la zona densa y blanca de la hidrólisis bien definida, generada por la actividad enzimática de la levadura a las 24, 48 y 72 h. Se calculó el índice de actividad enzimática (Pz) dividiendo el diámetro de crecimiento de la colonia entre el diámetro de la zona de hidrólisis enzimática¹⁶. El índice Pz puede tomar valores que van de cero a uno, correspondiendo aquellos más próximos a cero a niveles máximos de actividad enzimática, mientras que los índices con valores próximos o iguales a uno son indicativos de un bajo nivel o ausencia de actividad, respectivamente, de la siguiente forma: 1 (Sin actividad enzimática); 0,90-0,99 (+); 0,80-0,89 (++) ; 0,70-0,79 (+++) ; $\leq 0,69$ (++++)¹⁶.

Determinación de la actividad de proteasa

La actividad de proteasa se determinó mediante el ensayo de Aoki *et al.*¹⁷, inoculando cada una de las cepas en lugares diferentes en un medio agar base de carbono para levaduras (1,17%) suplementado con 0,2% de albúmina de suero bovino (YCB-BSA), por triplicado, y se incubaron a $35\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$. Los diámetros de las colonias y de las zonas de precipitación generadas por la actividad enzimática se midieron a las 24, 48, 72 h, hasta los 7 d. Las mediciones, los cálculos de la actividad proteolítica y la interpretación se realizaron de acuerdo con el método de Price *et al.*¹⁶, descrito anteriormente.

Para valorar la actividad de las fosfolipasas y proteasas se utilizaron como control de referencia las cepas *Pichia kudriavzevii* (*Candida krusei*) ATCC® 6258¹⁸, *Candida parapsilosis* ATCC® 22019, *Candida albicans* ATCC® 28367, *Candida albicans* 36801 y *Candida parapsilosis* ATCC® 22019.

Determinación de la actividad de la hemolisina

La actividad hemolítica se evaluó con modificaciones de las técnicas descritas por

De Melo *et al.*¹⁹ y Ortolan *et al.*²⁰ en cuanto a la procedencia de la sangre y porcentaje de glucosa, en ASD más sangre humana fresca al 5%. Los ensayos se realizaron por triplicado y se incubaron a $35^{\circ}\text{C} \pm 2$. La lectura fue realizada a las 24 y 48 h. La presencia de hemólisis beta (total) o alfa (parcial) fue considerada como un resultado positivo. La actividad hemolítica (Índice hemolítico, IH) se midió dividiendo el diámetro de la colonia entre la zona de hemólisis más el diámetro de la colonia, siguiendo la metodología descrita por de Paula Menezes *et al.*²¹. La interpretación del IH fue la siguiente: negativo (IH=1); moderado (IH= < 1-0,63); alto (IH= $\leq 0,63$).

El control de calidad para la presencia de actividad hemolítica se utilizó la cepa ATCC®: *Staphylococcus aureus* y para la confirmación del complejo género/especie de *C. albicans* se utilizó la cepa *Candida albicans* ATCC® 10231.

Determinación de la formación de biopelículas

- *Preparación del inóculo para el análisis de biopelículas.* De los aislados obtenidos, previa verificación de viabilidad y pureza, se preparó una suspensión en solución salina estéril al 0,85%, con una turbidez de 0,5 en la escala McFarland ($1,5 \times 10^6$ UFC/mL). 200 μL de la suspensión se colocaron en 19,8 mL de caldo infusión cerebro corazón (BHI, Oxoid®), obteniendo así una dilución 1:100²².

- *Método en microplacas de poliestireno.* Se utilizaron microplacas de titulación de poliestireno (MPS) de fondo plano, en cuyos pocillos se añadieron 200 μL de la dilución en caldo BHI 1:100, siguiendo la metodología adaptada para *Candida* spp. por Moreno *et al.*²². Cada aislado se estudió por triplicado. Para la interpretación de los resultados, se utilizó la metodología estadística establecida por Stepanovic

*et al.*²³, para la cuantificación de biopelículas en *Staphylococcus* adaptada a microorganismos fúngicos; las mismas fueron clasificadas, realizando las lecturas por densidad óptica (DO) a 490 nm, como: no formadoras (DO < DOc), poco formadoras (DOc < DO < 2DOc), moderadamente formadoras (2DOc < DO < 4DOc) y fuertemente formadoras (4DOc < DO). DOc (punto de corte o cut-off). Se utilizaron como controles positivos para la formación de biopelículas las cepas *C. albicans* ATCC® 28367, *C. albicans* 36801.

Perfil de sensibilidad a los antifúngicos por Vitek 2 Compact®

Las tarjetas AST YSO1® del sistema Vitek 2 Compact® contienen una serie de diluciones seriadas para anfotericina B (0,25 a 16 µg/mL), voriconazol (0,125 a 8 µg/mL) y fluconazol (1 a 64 µg/mL) y se siguieron las recomendaciones del fabricante para la ejecución de las pruebas de sensibilidad²⁴. La interpretación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) de fluconazol y voriconazol se realizó tomando en cuenta los puntos de corte clínico del documento CLSI²⁵, mientras que para la interpretación de la CMI de anfotericina B se tomaron en consideración los puntos de corte sugeridos por Pfaller *et al.*²⁶. Para el control de calidad en la identificación del complejo *C. albicans* (género y especie) se utilizó la cepa *C. albicans* ATCC® 10231.

Métodos estadísticos

Las variables se describieron utilizando estadística descriptiva y medidas de tendencia central. Se utilizó la prueba de Kolmogorov-Smirnov para verificar la normalidad de los datos cuantitativos. Se utilizaron pruebas estadísticas no paramétricas. Para determinar la correlación entre las variables sensibilidad a los antifúngicos y los factores de virulencia se utilizó la prueba exacta de Fisher y la prueba de correlación de rangos de Spearman. La fuerza de la correlación de

los datos pareados se interpretó con el coeficiente de correlación de Spearman (r_s). Se consideró un valor de $p \leq 0,05$ como significancia estadística. El análisis estadístico se realizó utilizando el programa Statgraphics 19® Centurion.

Una limitante del estudio es la cantidad de cepas evaluadas (n=22).

RESULTADOS

Las pacientes con vulvovaginitis candidiásica (VVC) recurrente estaban en edad reproductiva, con edades comprendidas entre 24 y 45 años y una media de 31,5 años. De las 22 cepas analizadas, 17 cepas (77%) expresaron actividad de fosfolipasas como se muestra en la Fig. 1 A y 1 B, seis cepas (27,3%) fueron capaces de producir proteasas (Fig. 1 C y D) y todas las cepas de *C. albicans* evaluadas produjeron hemolisinas (Fig. 1 E y F). A nivel general, evaluando la actividad de estas tres enzimas en los aislados estudiados, 17 (77%) expresaron dos de las enzimas analizadas al mismo tiempo (fosfolipasas y hemolisinas), tres aislados (13,6%) presentaron las tres enzimas de manera simultánea y solo un aislado (4,5%) expresó actividad hemolítica alta; los demás presentaron actividad hemolítica moderada.

La mayoría de las cepas (82%) estudiadas formaron biopelículas, siendo clasificadas como formadoras débiles, cuya DO estuvieron dentro del rango entre 0,1013-0,2024, clasificadas de acuerdo con el valor de la media de las tres lecturas, mientras que el 18% (cuatro cepas) no formó biopelículas conforme a los rangos de DO obtenidos.

De los 22 aislados analizados, 18 cepas fueron resistentes a fluconazol, mientras que cuatro presentaron sensibilidad dependiente de la dosis. En cuanto a la sensibilidad a voriconazol, sólo uno de los aislados fue sensible, cinco aislados presentaron un rango intermedio, mientras que 16 fueron resistentes. No obstante, todos los aislados fueron sensibles a anfotericina B como antifúngico de amplio espectro, como se observa en la Tabla 1.

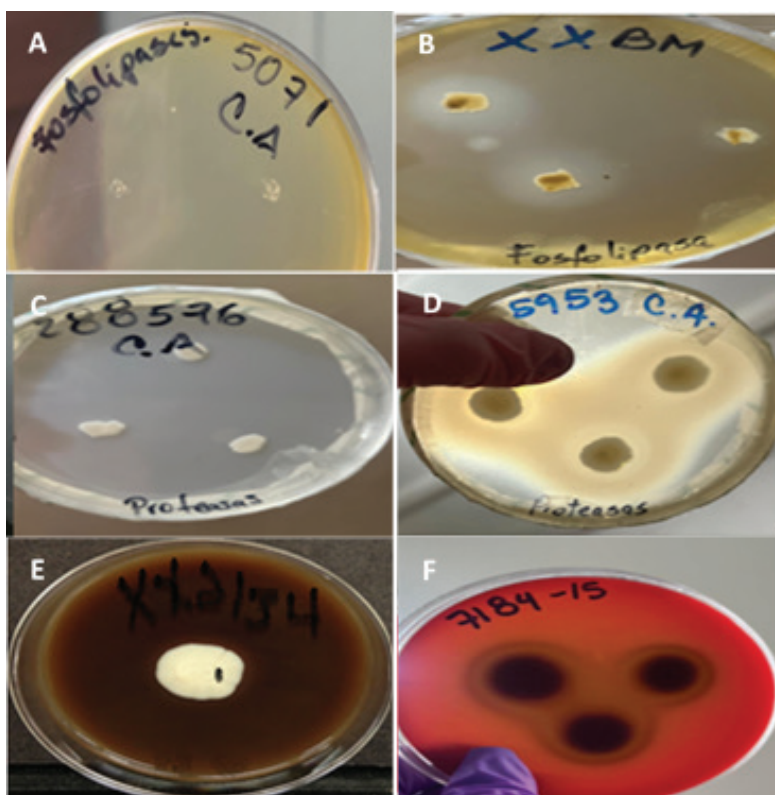


Fig. 1. Actividad de los factores de virulencia de *C. albicans* aisladas de secreciones vaginales de pacientes con VVC recurrente. A: actividad fosfolipasa negativa en ASDYH. B: actividad fosfolipasa positiva en ASDYH. C: actividad proteasa negativa en YCB-BS. D: actividad proteasa positiva en YCB-BSA. E: actividad hemolítica negativa en ASD más sangre humana fresca al 5%. F: actividad hemolítica positiva en ASD más sangre humana fresca al 5%. VVC: vulvovaginitis candidiásica; ASD: agar Sabouraud dextrosa; ASDYH: ASD suplementado con yema de huevo; YCB-BS: agar base de carbono para levaduras suplementado con albúmina de suero bovino.

Tabla 1. Rangos y parámetros estadísticos de sensibilidad de *Candida albicans* a tres antifúngicos por el sistema Vitek 2 Compact®.

Antifúngico	Rangos (µg/mL)	MG	M	DE	Porcentaje (%)			
					S	SDD	I	R
FZ	4 - 64	17,91	64,00	23,77	-	18	-	82
VO	0,12 - 16	2,15	1,00	3,45	4	-	23	73
AB	0,12 - 1	0,40	0,50	0,22	100	-	-	-

FZ: fluconazol. VO: voriconazol. AB: anfotericina B. MG: media geométrica. M: moda. DE: desviación estándar. S: sensibilidad. SDD: sensibilidad dependiente de la dosis. I: intermedio. R: resistente.

La prueba de correlación de rangos de Spearman no pudo ser aplicada para correlacionar los factores de virulencia y los resultados obtenidos con la anfotericina B, debido a que todas las cepas de *C. albicans* ensayadas fueron sensibles a este antifúngico. Sin embargo, se pudo aplicar la prueba exacta de Fisher, mostrando que la asociación entre las variables no fue significativa.

DISCUSIÓN

Candida albicans es el principal agente causal de VVC, enfermedad muy frecuente que afecta aproximadamente al 75% de las mujeres en edad fértil al menos una vez en su vida ². El desarrollo de la candidiasis se asocia con una inmunosupresión del huésped, así como con los cambios transcripcionales del hongo en respuesta a un entorno

cambiante del huésped que están prácticamente ausentes durante la colonización, favoreciendo la transición de comensal a patógeno ²⁷, incrementándose la carga fúngica y la alteración de la microbiota vaginal (disminución de *Lactobacillus* spp. o alteración en la distribución de las especies). Esto a su vez promueve la formación de hifas que pueden penetrar directamente las células epiteliales de la mucosa vaginal o desarrollarse entre las uniones intercelulares, lo cual genera daño y produce consecuentemente una respuesta inflamatoria que se asocia a la aparición de las manifestaciones clínicas de la infección ²⁸.

Las enzimas hidrolíticas que degradan los fosfolípidos presentes en la membrana de la célula fúngica. Las fosfolipasas, permiten la invasión de la célula al tejido del huésped, causando un importante daño tisular ¹¹. En este estudio, las cepas con actividad fosfolipasa fueron similares a las obtenidas por Samaranayake *et al.* ²⁹, donde el 79% de las cepas de *C. albicans* analizadas presentaron actividad fosfolipasa; y discordantes con los obtenidos por Panizo *et al.* ¹⁴, donde el 100% de las cepas de *C. albicans* mostraron actividad fosfolipasa.

Por otra parte, enzimas como las proteasas favorecen la colonización, invasión de tejidos y evasión del sistema inmunológico al degradar proteínas de defensa ¹¹. Estudios como los de Pandey *et al.* ³⁰, hallaron que *C. albicans* mostró fuerte actividad de la proteasa en un 93,75% ³⁰; igualmente Sriphanam *et al.* ¹¹, y Panizo *et al.* ¹³, reportaron que el 100% de las cepas de *C. albicans* analizadas presentaron actividad de la proteasa, estos resultados fueron diametralmente opuestos a los obtenidos en el presente estudio, donde sólo el 27,3% de los aislados analizados presentó actividad proteasa. Las diferencias observadas con respecto a la actividad fosfolipasa y proteasa pudieran estar relacionadas con varios factores tales como: variaciones en el tiempo de la incubación, la fórmula de preparación del medio de cultivo

y/o el lugar de procedencia de las muestras biológicas utilizadas para el aislamiento de *C. albicans* en cada estudio. De igual forma, es importante destacar que la patogenia de *C. albicans* también está asociada a factores dependientes del huésped y no se relaciona con un único factor de virulencia, sino con el conjunto de éstos ³¹.

Otro mecanismo de virulencia de *C. albicans* es la producción de enzimas hemolíticas capaces de lisar glóbulos rojos, decomponer la hemoglobina y liberar el hierro, promoviendo así la supervivencia a largo plazo de *Candida* y la invasión por parte de las hifas a los tejidos del hospedador ^{21,32}. El 100 % de las cepas estudiadas fueron capaces de producir hemolisinas, lo cual se relaciona con la investigación realizada por de Paula *et al.* ³³ quienes observaron que la mayoría de las cepas de *C. albicans* (71,4%) expresaron alta actividad hemolítica y, además, reflejaron mayor capacidad para producir hemolisinas con respecto a otras especies de *Candida* estudiadas. Sin embargo, en la presente investigación la mayoría de las cepas (95%) presentó un índice hemolítico moderado y sólo una cepa (4,5%) presentó una actividad hemolítica alta. En otro estudio, realizado por Pakshir *et al.* ³⁴, también se observó actividad hemolítica en todos los aislados de *C. albicans* analizados.

La formación de biopelículas como mecanismo de virulencia en *C. albicans* permite la unión compacta a superficies vivas o inertes, colonización de tejidos, incremento de la patogenicidad, cooperación metabólica, captura de nutrientes y comunicación célula a célula, aumentando de esta forma su tolerancia a ambientes hostiles y al tratamiento antifúngico ³⁵. Moreno *et al.* ²², estudiaron la capacidad de formación de biopelículas en 19 aislados provenientes de secreciones vaginales, informando que todos fueron capaces de formar biopelículas, donde 14 (73,7%) fueron formadoras débiles, dos (10,5%) formadoras moderadas y tres (15,8%) formadoras fuertes ¹.

El presente estudio el 82% de las cepas estudiadas formaron biopelículas y todas fueron clasificadas como formadoras débiles. De forma similar, de Paula *et al.*³³, registraron que el 86,5% de las cepas de *C. albicans* estudiadas fueron capaces de producir biopelículas, cuya clasificación fue: 42,8% como formadoras débiles y 42,8% como formadoras moderadas. Así mismo, Morales-López *et al.*³⁶, informaron que de 300 aislamientos de *C. albicans*, 246 resultaron positivos a la formación de biopelículas: 85 aislados (28%) se clasificaron como fuertemente formadores; 86 (29%) como formadores moderados y 74 (25%) como formadores débiles. *C. albicans* tiene un amplio potencial para formar biopelículas, propiciando la invasión y diseminación de la infección, ya que confiere protección a las levaduras dentro de las capas más internas de las mucosas, impidiendo la penetración de los antifúngicos y su efecto farmacológico, favoreciendo la supervivencia del hongo y la aparición de episodios recurrentes de la infección^{35,37}.

La resistencia a los antifúngicos es un tema de gran preocupación, en especial la resistencia a los azoles como el fluconazol, que es el más utilizado para el tratamiento de la candidiasis. La resistencia a los antifúngicos ocurre con frecuencia en entornos clínicos y puede estar relacionado a factores como la exposición prolongada a estos fármacos^{7,37}. Además, se ha demostrado que la resistencia a los azoles trae como resultado una estimulación de los factores de virulencia dependiendo de la especie³⁸. Los resultados obtenidos de las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos son similares a un estudio realizado por Moreno *et al.*¹, donde encontraron que de los 19 aislados de *C. albicans* provenientes de secreciones vaginales, todos fueron sensibles a anfotericina B, mientras que el 89,5% presentaron elevada resistencia a los azoles evaluados (voriconazol, itraconazol y fluconazol), enfatizando que el fluconazol exhibió el mayor porcentaje de cepas resistentes.

La elevada resistencia a los azoles se puede asociar a una exposición prolongada de *C. albicans* a fluconazol. Por otra parte, la anfotericina B podría ser una alternativa terapéutica para tratar la VVC, sin embargo, este antifúngico no posee presentación oral¹. La nistatina, que también es un polieno, tiene presentación tópica, por lo cual pudiera ser utilizada como segunda opción de tratamiento en pacientes con VVC recurrente^{1,6}.

Las cepas de *C. albicans* ensayadas frente a fluconazol resultaron sensibles dependientes de la dosis (SDD) y resistentes (R), mientras que frente a voriconazol fueron intermedias (I) y R; ninguna mostró sensibilidad a los antifúngicos, por lo tanto, los resultados de la CMI no poseen una distribución normal en términos estadísticos, al igual que la anfotericina B, ya que todas las cepas ensayadas fueron sensibles al antifúngico y, al no obtener cepas resistentes, la distribución de las CMI tampoco es normal. Probablemente por esta razón, no se observaron los resultados reportados en la literatura donde los factores de virulencia están relacionados a la resistencia antifúngica^{7,38}. Además la muestra fue muy pequeña, intencional y no probabilística de pacientes con VVC recurrente, en estas pacientes, *C. albicans* suele expresar resistencia secundaria a fluconazol, debido a que es el tratamiento de primera elección indicado con frecuencia para la afección de VVC^{10,39}. El uso reiterado de fluconazol genera presión selectiva en la microbiota vaginal, seleccionando resistencia secundaria, y dicha presión selectiva también genera la presencia de otras especies de *Candida* causantes de VVC^{40,41}.

La resistencia a fluconazol puede inducir resistencia cruzada a otros azoles que se utilizan como opciones de tratamiento alternativo en la VVC, como voriconazol e itraconazol⁴². Esto se pudo observar en los resultados obtenidos al ensayar las cepas de *C. albicans* a fluconazol y voriconazol, similares a los encontrados por Moreno *et al.*¹, quienes demostraron estadísticamente la presen-

cia de reacción cruzada en cepas de *C. albicans* aisladas de secreciones vaginales.

Finalmente, los resultados obtenidos evidenciaron que los factores de virulencia como las fosfolipasas, hemolisinas, formación de biopelículas y en menor grado la presencia de proteasas, son factores de virulencia que están presentes en las cepas *C. albicans* evaluadas. Aunque no se encontró una relación directa de estos factores con la resistencia al fármaco de primera línea, el fluconazol, ni tampoco con voriconazol, estos hallazgos podrían haber estado influenciados por el tamaño de la muestra, por lo tanto, es necesario aumentar el número de esta e incluir cepas de *C. albicans* sensibles a los antifúngicos azólicos. La expresión de los factores de virulencia de *C. albicans* estudiados se considera independiente a la sensibilidad antifúngica; su papel es generar un efecto estimulante que permite con mayor facilidad la invasión, multiplicación y daño a los tejidos del hospedador por parte del hongo, produciendo el cuadro clínico de VVC recurrente, sin estar asociado con la presencia de resistencia a los fármacos azólicos. Se sugiere continuar con esta investigación valorando un mayor número de aislados que incluyan cepas con sensibilidad y resistencia a los azoles para definir si los factores de virulencia analizados están relacionados con la resistencia a los antifúngicos como lo han descrito otros autores.

Financiamiento

Este estudio ha sido financiado por el Departamento de Microbiología del Instituto Médico La Floresta y con fondos internos de la Cátedra de Bacteriología de la Escuela de Bioanálisis de la Universidad Central de Venezuela.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Número ORCID de los autores

- Xiomara Moreno Calderón (XMC): 0000-0002-5924-6158
- Angie Cantero Alvarado (ACA): 0009-0006-8845-6759
- María G. Vivas Parababire (MGVP): 0009-0002-0204-4763
- María M. Panizo Domínguez (MMPD): 0000-0001-8438-4993

Contribución de los autores

XMC Conceptualización y diseño del estudio, investigación; análisis e interpretación de resultados, preparación, redacción, revisión y edición del manuscrito final. ACA y MGVP Investigación, análisis, interpretación de resultados y edición del manuscrito final. MMPD estadístico y análisis, revisión y edición del manuscrito final.

REFERENCIAS

1. **Moreno X, Núñez G, Rosales O, Ferrara G, Panizo MM.** Evaluación de factores de virulencia y perfil de susceptibilidad en *Candida albicans* provenientes de secreciones vaginales. Acta Cient Soc Venez Bioanal Esp. 2021; 24(2):70-78. Disponible en: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_ACSVBE/article/view/26181/144814492171
2. **Leite-Jr DP, Vivi-Oliveira VK, Maia MLS, Macioni MB, Oliboni GM, de Oliveira, et al.** The *Candida* Genus complex: biology, evolution, pathogenicity and virulence, beyond the *Candida albicans* paradigm. A comprehensive review. Virol Immunol J. 2023; 7(2):000331. <https://doi.org/10.23880/vij-16000331>.
3. **Willems HME, Ahmed SS, Liu J, Xu Z, Peters BM.** Vulvovaginal candidiasis: A current understanding and burning questions. J Fungi (Basel). 2020; 6(1):27. <https://doi.org/10.3390/jof6010027>.
4. **Arenas Guzmán R.** Candidosis (Candidiasis). En: Arenas Guzmán R, editor. Mi-

- cología Médica Ilustrada. 5ª ed. México: McGraw-Hill; 2014. p. 242-248. Disponible en: <https://biblioteca-digital-cefam.usmex.mx/micologia-medica2/>
5. **Life Worldwide.** Mucosal *Candida*. Fungal Education. 2019 [citado el 28 de diciembre de 2024]. Disponible en: <https://en.fungaleducation.org/mucosal-candida/>.
 6. **Miró MS, Rodríguez E, Vigezzi C, Icely PA, Gonzaga de Freitas Araújo M, Riera FO, et al.** Candidiasis vulvovaginal: una antigua enfermedad con nuevos desafíos. *Rev Iberoam Micol.* 2017; 34(2):65-71. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2016.11.006>.
 7. **Mohammadi F, Ghasemi Z, Familsatarian B, Salehi E, Sharifynia S, Barikani A, et al.** Relationship between antifungal susceptibility profile and virulence factors in *Candida albicans* isolated from nail specimens. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2020; 53: e20190214. <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0214-2019>.
 8. **Achkar JM, Fries BC.** *Candida* infections of the genitourinary tract. *Clin Microbiol Rev.* 2010; 23(2):253-273. <https://doi.org/10.1128/cmr.00076-09>.
 9. **Cassone A.** Vulvovaginal *Candida albicans* infections: pathogenesis, immunity and vaccine prospects. *BJOG.* 2015; 122(6):785-794. <https://doi.org/10.1111/1471-0528.12994>.
 10. **Sobel JD, Sobel R.** Current treatment options for vulvovaginal candidiasis caused by azole-resistant *Candida* species. *Expert Opin Pharmacother.* 2018; 19(9):971-977. <https://doi.org/10.1080/14656566.2018.1476490>.
 11. **Sriphannam C, Nuanmuang N, Saengsawang K, Amornthipayawong D, Kummasook A.** Anti-fungal susceptibility and virulence factors of *Candida* spp. isolated from blood cultures. *J Mycol Med.* 2019; 29(4):325-330. <https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2019.08.001>.
 12. **Lamoth F, Lockhart SR, Berkow EL, Calandra T.** Changes in the epidemiological landscape of invasive candidiasis. *J Antimicrob Chemother.* 2018; 73(1):i4-i13. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx444>.
 13. **Panizo MM, Reviákina V, Flores Y, Montes W, González G.** Actividad de fosfolipasas y proteasas en aislados clínicos de *Candida* spp. *Rev Soc Ven Microbiol.* 2005; 25(2):64-71. Disponible en: https://ve.scielo.org/scielo.php?pid=S1315-25562005000200006&script=sci_arttext.
 14. **Castellani A.** Further researches on the long viability and growth of many pathogenic fungi and some bacteria in sterile distilled water. *Mycopathol Mycol Appl.* 1963; 20:1-6. <https://doi.org/10.1007/bf02054872>.
 15. **Echeverría A, Durante AG, Arechavala A, Negroni R.** Estudio comparativo de dos medios de cultivo para la detección de la actividad de fosfolipasa en cepas de *Candida albicans* y *Cryptococcus neoformans*. *Rev Iberoam Micol.* 2002; 19:95-98. Disponible en: <https://reviberoammicol.com/2002-19/095098.pdf>.
 16. **Price MF, Wilkinson ID, Gentry LO.** Plate method for detection of phospholipase activity in *Candida albicans*. *Sabouraudia.* 1982; 20(1):7-14. <https://doi.org/10.1080/00362178285380031>.
 17. **Aoki S, Ito-Kuwa S, Nakamura Y, Masuhara T.** Comparative pathogenicity of wild-type strains and respiratory mutants of *Candida albicans* in mice. *Zentralbl Bakteriol.* 1990; 273:332-343. [https://doi.org/10.1016/S0934-8840\(11\)80437-8](https://doi.org/10.1016/S0934-8840(11)80437-8).
 18. **Cruz Choappa R, Vieille Oyarzo P.** Nuevos nombres para antiguas especies fúngicas de importancia médica. *Rev Chil Infectol.* 2023; 40(5): 461-464. <http://doi.org/10.4067/s0716-10182023000500461>.
 19. **De Melo Riceto ÉB, de Paula Menezes R, Penatti MPA, dos Santos Pedrosa R.** Enzymatic and hemolytic activity in different *Candida* species. *Rev Iberoam Micol.* 2015; 32(2):79-82. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2013.11.003>:79-82.
 20. **Ortolan Röriq KC, Colacite J, Abegg MA.** Produção de fatores de virulência *in vitro* por espécies patogênicas do gênero *Candida*. *Rev Soc Bras Med Trop.* 2009; 42(2):225-227. <https://doi.org/10.1590/S0037-86822009000200029>.

21. de Paula Menezes R, de Melo Riceto ÉB, Borges AS, de Brito Roder DV, dos Santos Pedroso R. Evaluation of virulence factors of *Candida albicans* isolated from HIV-positive individuals using HAART. Arch Oral Biol. 2016; 66:61-65. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.02.004>.
22. Moreno X, Ventura M, Panizo MM, Garcés MF. Evaluación de la formación de biopelículas en aislamientos bacterianos y fúngicos por el método semicuantitativo de microtitulación con cristal violeta y el cualitativo de agar con rojo Congo. Biomédica. 2023; 43(Suppl 1):77-88. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6732>.
23. Stepanovic S, Vukovic D, Dakic I, Savic B, Svabic-Vlahovic M. A modified micro-titer-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. J Microbiol Methods. 2000; 40(2):175-179. [https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(00\)00122-6](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(00)00122-6).
24. Ochiuzzi ME, Arechavala A, Guelfand L, Maldonado I, Soloaga R, Red de Micología CABA, Argentina. Evaluación de las tarjetas ASTYSO1 del sistema Vitek 2 para determinar la sensibilidad a antifúngicos de levaduras del género *Candida*. Rev Argent Microbiol. 2014; 46(2):111-118. [https://doi.org/10.1016/S0325-7541\(14\)70058-6](https://doi.org/10.1016/S0325-7541(14)70058-6).
25. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts. 2nd ed. CLSI Supplement M60- Ed 2. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2020. Disponible en: www.clsi.org.
26. Pfaller MA, Espinel-Ingroff A, Canton E, Castanheira M, Cuenca-Estrella M, Diekema DJ, et al. Wild-type MIC distributions and epidemiological cutoff values for amphotericin B, flucytosine, and itraconazole and *Candida* spp. as determined by CLSI broth microdilution. J Clin Microbiol. 2012; 50(6):2040-2046. <https://doi.org/10.1128/JCM.00248-12>.
27. Hube B. From commensal to pathogen: stage- and tissue-specific gene expression of *Candida albicans*. Curr Opin Microbiol. 2004;7(4):336-341. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2004.06.003>.
28. Jacobsen ID. The role of host and fungal factors in the commensal-to-pathogen transition of *Candida albicans*. Curr Clin Microbiol Rep. 2023; 10(2):55-65. <https://doi.org/10.1007/s40588-023-00190-w>.
29. Samaranayake LP, Raeside JM, Macfarlane TW. Factors affecting the phospholipase activity of *Candida* species *in vitro*. Sabouraudia. 1984; 22(3):201-207. <https://doi.org/10.1080/00362178485380331>.
30. Pandey N, Gupta MK, Tilak R. Extracellular hydrolytic enzyme activities of the different *Candida* spp. isolated from the blood of the intensive care unit-admitted patients. J Lab Physicians. 2018; 10(4):392-396. https://doi.org/10.4103/JLP.JLP_81_18.
31. Hernández-Solís SE, Rueda-Gordillo F, Rojas-Herrera RA. Actividad de la proteínasa en cepas de *Candida albicans* aisladas de la cavidad oral de pacientes inmunodeprimidos, con candidiasis oral y sujetos sanos. Rev Iberoam Micol. 2014; 31(2):137-140. <https://doi.org/10.1016/j.riam.2013.09.003>.
32. Tiwari P, Aishwarya N, Tiwari K, Tanushree P, Munesh Kumar G, Tilak R. *In vitro* determination of antifungal susceptibility and virulence factors in *Candida* species causing candidemia in North India region. Discov Public Health. 2024; 21:50. <https://doi.org/10.1186/s12982-024-00175-0>.
33. de Paula Menezes R, Silva FF, Melo SGO, Alves PGV, Brito MO, de Souza Bessa MA, et al. Characterization of *Candida* species isolated from the hands of the healthcare workers in the neonatal intensive care unit. Med Mycol. 2019; 57(5):588-594. <https://doi.org/10.1093/mmy/myy101>.
34. Pakshir K, Bordbar M, Zomorodian K, Nouraei H, Khodadadi H. Evaluation of CAMP-like effect, biofilm formation, and discrimination of *Candida africana* from vaginal *Candida albicans* species. J Pathog. 2017; 2017:7126258. <https://doi.org/10.1155/2017/7126258>.
35. Castrillón LE, Palma A, Padilla MC. Biopelículas fúngicas. Dermatol Rev Mex. 2013; 57 (5):350-361. Disponible en: https://www.esi.academy/wp-content/uploads/Biopelículas_fúngicas.pdf

36. **Morales-López S, Ustate K, Pedrozo Z, Torres Y.** Tipificación bioquímica y evaluación de la patogenicidad de aislamientos vulvovaginales del complejo *Candida albicans*. Biomed. 2023; 43(1):194-205. <https://doi.org/10.7705/biomedica.6861>.
37. **López-Ávila K, Dzúl-Rosado KR, Lugo-Caballero C, Arias-León JJ, Zavala-Castro JE.** Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Una revisión. Rev Biomédica. 2016; 27(3):127-136. <https://doi.org/10.32776/revbiomed.v27i3.541>.
38. **Siddiqui R, Mendiratta D, Siddiqui A, Rukadikar A.** A study of the association between virulence factors and antifungal susceptibility profile of *Candida* species recovered from cases of vulvovaginal candidiasis. J Family Med Prim Care. 2023; 12(1):152-159. https://doi.org/10.4103/jfmpe.jfmpe_1479_22.
39. **Berkow E, Lockhart S.** Fluconazole resistance in *Candida* species: a current perspective. Infect Drug Resist. 2017; 10:237-245. <https://doi.org/10.2147/idr.s118892>.
40. **Tapia C.** Candidiasis vulvovaginal. Rev Chil Infectol. 2008; 25(4):312. <https://doi.org/10.4067/S0716-10182008000400016>.
41. **Makanjuola O, Bongomin F, Fayemiwo SA.** An update on the roles of non-*albicans* *Candida* species in vulvovaginitis. J Fungi (Basel). 2018; 4(4):121. <https://doi.org/10.3390/jof4040121>.
42. **Quindós G, Cantón E, Espinel A, López J, Pemán F, Mazuelos E, et al.** Resistencia a los fármacos antifúngicos. En: Quindós G. Micología Clínica. 1era ed. Elsevier; Barcelona, España: 2015. p 265-278. Disponible en: <https://books.google.co.ve/books?id=MujCAAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>