

870127

31
21
le

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE GUADALAJARA

INCORPORADA A LA UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA DE CIENCIAS QUIMICAS



**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

IDENTIFICACION DE *Candida albicans*
POR MEDIO DE ANTISUERO ESPECIFICO DE CEPAS
PROCEDENTES DE MUESTRAS CLINICAS.

TESIS PROFESIONAL

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
GRACIELA EMILIA SILVA TORRES

Asesor: Q.F.B. María del Socorro Pulido García
GUADALAJARA, JALISCO

1986



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E

Páginas

1.	INTRODUCCION.....	1
1.1	Aspectos históricos.....	2
1.2	Taxonomía de <u>Candida albicans</u>	2
1.3	Generalidades de <u>Candida albicans</u>	4
1.3.1	Habitat natural.....	4
1.3.2	Factores predisponentes.....	4
1.4	Características morfológicas de <u>Candida albicans</u>	5
1.5	Cultivo; producción de clamidosporas y pseudomicelio.....	6
1.5.1	Exámen directo.....	6
1.5.2	Cultivos.....	7
1.5.3	Producción de clamidosporas.....	7
1.5.4	Formación de pseudomicelio.....	8
1.6	Descripción de la morfología celular.....	9
1.7	Metabolismo y propiedades bioquímicas.....	10
1.8	Patogenia de las infecciones causadas por <u>Candida albicans</u>	10
1.8.1	Tipos de enfermedades.....	11
1.9	Inmunología de candidiasis.....	12
1.9.1	Ensayos inmunológicos para determinación de candidiasis.....	13
1.10	Descripción de la prueba de aglutinación.....	17
1.11	Objetivo del trabajo.....	20
2.	MATERIAL Y METODO.....	22
2.1	Procedencia de las copas.....	23
2.1.1	Transporte de las muestras.....	23
2.2	Metodología microbiológica.....	23
2.2.1	Reaislamiento.....	23

2.2.2	Microscopía.....	24
2.2.3	Reconfirmación bioquímica de especie <u>albicans</u>	24
2.3	Comprobación serológica de especie <u>albicans</u> mediante desarrollo de la reacción de aglutinación antígeno-anticuerpo.....	26
2.4	Fermentación y asimilación de azúcares.....	28
3.	RESULTADOS.....	30
4.	CONCLUSIONES.....	40
5.	APENDICE.....	43
6.	BIBLIOGRAFIA.....	45

1. INTRODUCCION

1.1 Aspectos históricos.

La primera descripción de un hongo de este tipo descubierto, en un enfermo, fué la de Langenbeck, quien en 1839 lo observó en placas de la mucosa de la boca, y en otras partes del cuerpo al efectuar una necropsia. Gruby (1842) confirmó el descubrimiento, y el microorganismo fué denominado, cuatro años más tarde, Oidium albicans por Robin (21), y 70 años más tarde Berkhout transfirió la especie al género Candida. Durante las dos primeras décadas de este siglo los estudios de Castellani de el papel de Candida albicans en broncomoniliasis y las observaciones de Ashford de la constante presencia en esputo tropical son notables (20).

1.2 Taxonomía de Candida albicans.

(Según clasificación de B.H. Cooper (25)).

Reino: Mycetozoa (Fungi)

División: Amastigomycota

Subdivisión: Deuteromycotina (División Deuteromycota)

Clase forma: Deuteromycetes

Subclase forma: Blastomycetidae: Levaduras imperfectas.

Familia: Cryptococcaceae

Incluye los siguientes géneros (26):

Blattomyces

+Candida

++Cryptococcus

Kloeckera

- + Malassezia
- Oomorphidium
- Phaffia
- + Rhodotorula
- Sarcinoseoron
- Schizoblastoseoron
- Sterizantomyces
- Synodiomyces
- + Trichoseoron
- Trigonosia
- + Torulopsis

Género: Candida

Reproducción por blastosporas: Pueden formar pseudomicelio o micelio verdadero. Generalmente ureasa negativa. - No poseen cápsulas ni pigmento carotenoido.

Especie: albicans

Candidiasis.

- + Géneros de importancia médica.
- ++ Filobacidiella neoformans (antigua nomenclatura) pertenece a los Basidiosporogenous, también de importancia médica.

1.3 Generalidades de Candida albicans.

1.3.1 Habitat Natural.

Como Candida albicans existe en la membrana mucosa de la vagina y aumenta en concentración durante el embarazo, la mayoría de los individuos son primeramente expuestos a este organismo en el nacimiento. Así la levadura persiste en el tracto alimentario y membrana mucosa de la vagina a través de la vida, donde lleva una vida comensal. El organismo parece ser altamente inamunológico, la mayoría de los individuos poseen anticuerpos específicos a Candida y exhiben una hipersensibilidad tardía a la prueba cutánea con antígenos específicos (14). Esto hace que las pruebas cutáneas sean de escaso valor. La elevada proporción de personas sensibles al antígeno de Candida es resultado de la exposición de los adultos, durante varios años a ese microorganismo. Al parecer penetran a la piel cantidades suficientes del antígeno para estimular el desarrollo de hipersensibilidad (22).

1.3.2. Factores Predisponentes.

La conversión de este hongo de comensal a organismo patógeno parece estar relacionada a factores como el sistema microbiológico endógeno, la concentración de ciertos nutrientes o componentes del sistema inmune celular.

Terapia con antibióticos pueden crear condiciones que conducen a la proliferación de Candida albicans. Aún más, los antibióticos también pueden interferir con la habilidad del sistema inmune para limitar la infección fúngica. Se ha demostrado que tetraciclina y sulfamidas disminuyen la capacidad fagocítica de leucocitos polimorfonucleares.

Pacientes con deficiencia de hierro, hipocalcemia, diabetes u otras endocrinopatías, tienen una marcada incidencia de infecciones de candidiasis mucocutánea. Estas condiciones probablemente también promueven el crecimiento fúngico por alteración de la flora microbiana. Esto ocurre debido a cambios en la concentración de sustrato utilizable y a la actividad de componentes antimicrobianos tales como transferrina.

Debido a que un sistema inmunocelular intacto es esencial para la defensa contra infecciones fúngicas, no es sorprendente que los factores que llevan a alteraciones en componentes de este sistema también predisponen a infecciones por *Candida*. Desequilibrio hormonal debido al embarazo, terapia con corticosteroides o posiblemente uso de anticonceptivos orales pueden llevar a una inmunodepresión celular (14).

Candida albicans produce un espectro muy diverso de enfermedades humanas, en resumen, todos los tejidos y órganos son susceptibles a la invasión por este hongo, siempre que existan las condiciones adecuadas. El organismo ha sido identificado como agente etiológico primario de infecciones micóticas de la piel y de las uñas, en bronquitis pulmonares, estomatitis, vaginitis, endocarditis micótica, meningitis e infecciones generalizadas (20).

1.4 Características morfológicas de *Candida albicans*.

Se caracteriza por ser un hongo pequeño de tipo levadura, oval, que se reproduce por gemación, de 2.5x4x5 micrómetros. Desarrolla un pseudomicelio por alargamiento de células que no llegan a desprenderse. En el esputo, tejidos y exudado pueden verse las células en gemación y fragmentos de pseudomicelio (30).

Las muestras tomadas con hisopo de las lesiones deben cultivarse sobre agar glucosa de Sabouraud a 37°C y a temperatura ambiente. Cuando se cultivan esputo, pus y otros materiales contaminados procede agregar cloramfenicol y cicloheximida al medio para evitar la contaminación de los cultivos por bacterias y hongos saprófitos. Se manifiesta el desarrollo del organismo en dos o cuatro días en forma de colonias cremosas, de tamaño medio y de aspecto mate o húmedo. Se desprende de los cultivos un olor característico a levadura (16).

Las claudiosporas típicas sirven para distinguir Candida albicans de otras especies de Candida. Sin embargo, hay diferencias entre las cepas de esta especie en su capacidad de producir clamidosporas; con este propósito, se han descrito diversos medios. También se identifica la levadura por la formación de pseudomicelios en medios selectivos y por la producción de pigmento en la colonia.

No hay desarrollo en superficie en caldo (cuarenta y ocho horas); fermenta la glucosa y la maltosa con producción de ácido y gas, la sacarosa sólo con ácido y no fermenta la lactosa (30).

1.5 Cultivo: producción de claudiosporas y pseudomicelio.

1.5.1 Examen Directo.

Las raspaduras de piel y uñas deben montarse en un portaobjetos con una gota de hidróxido de potasio al 10 o 20 por 100, con aplicación de cubreobjetos y calentamiento suave de la preparación en la parte baja de la llama para aclaramiento inmediato. Procede someter a aplastamiento al esputo o las placas mucosas de la boca o vagina hasta obtener una película delgada bajo del cubreobjetos.

para exámen en fresco. Estos materiales pueden teñirse - también con método de Gram. En muestras tomadas directamente de la loción aparece las especies de Candida como - células de tipo levadura de pared delgada, en ocasiones, - se encuentran elementos miceliales y células con yemas adheridas a las hifas a nivel de los puntos de constricción (20).

1.5.2 Cultivos.

Las raspaduras o muestras tomadas con alceplo de las lociones deben cultivarse sobre agar glucosa de Sabouraud a 37°C y a temperatura ambiente. Las colonias son de tamaño medio, lisas, pastosas, y tienen característico olor a moho. Las más viejas (colonias gigantes) pueden ser alveoladas en el centro y formar surcos radiales (26).

De acuerdo con Moss y McQuown todo material sospechoso debe inocularse en agar Littman oxgall para aislamiento primario y agar glucosa Sabouraud y agar sangre si no está contaminado (27).

1.5.3 Producción de Clamidosporas.

Candida albicans muestra un tipo de dimorfismo relacionado con la nutrición. En condiciones de crecimiento - favorables y en presencia de carbohidratos fermentables, - crece como una levadura por gemación. En medios sin carbohidratos fermentables, y en condiciones semianerobias, o cuando el contenido de nitrógeno es elevado, la levadura se alarga formando un pseudomicelio, y un micelio acompañado de la producción de blastosporas y clamidosporas (Fig. 1A). Las clamidosporas crecen en agar corn meal Tween 80 (21), y pueden ser numerosas, individuales o en racimos, (23).

1.5.4 Formación de Pseudomicelio.

La formación de pseudomicelio (fig. 1B) también es un índice de la colonización del tejido. La aparición de formas de levadura solamente suele significar existencia saprófita. La presencia de ambas, levaduras y micelio, en esputo, sangre, orina y heces, indica colonización.

Una prueba adicional para diferenciar Candida albicans de otras especies se basa en su capacidad para formar "tubos germinales" en tioglicolato, suero sanguíneo, líquido cefalorraquídeo, albúmina de huevo o albúmina-ácido oleico (16). Este fenómeno de Reynolds y Praude (21) -- permite un rápido estudio diagnóstico.

Prueba del tubo germinal

1. Una muy pequeña porción de colonia aislada de la levadura en estudio se suspende en un tubo de ensayo que contiene 0.5 ml de suero humano o de conejo.
2. El tubo se incuba a 37°C durante no más de 3 horas.
3. Una gota de la suspensión levadura-suero se pone sobre un portaobjetos, se coloca un cubreobjetos y se examina al microscopio para comprobar la presencia de tubos germinales (23).

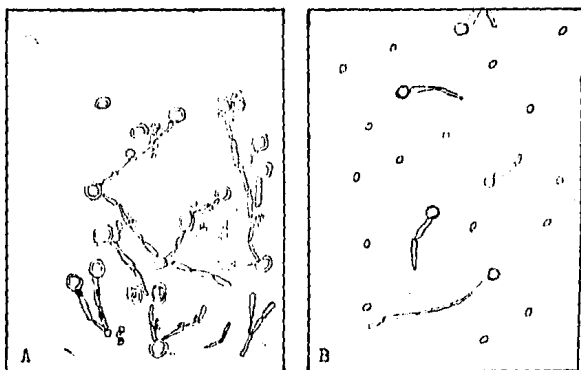


Figura 1. A) Numerosas clamidosporas de pared gruesa y - blastosporas. B) Tubo germinal, característico de Candida albicans (inmersión en aceite).

1.6 Descripción de la Morfología celular.

Las levaduras asemejan plantas superiores y animales en la complejidad anatómica de sus células. Son eucarióticas con varios diferentes cromosomas y una membrana nuclear bien definida, poseen mitocondrias y retículo endoplásmico. Además sus membranas contienen esteroides, así asemejan formas superiores más que a bacterias.

La pared celular de los hongos, como en las bacterias está inmediatamente externa a la membrana citoplasmática. Polímeros de hexosa y hexosaminas son los elementos estructurales principales de la pared del hongo. En varios mohos y levaduras la principal macromolécula estructural de la pared es quitina, que está hecha de residuos de N-acetil glucosamina. Estos están unidos por enlaces B-1, 4-glucosídicos.

La pared de muchas levaduras contienen complejos de polisacáridos con proteínas ricas en residuos de cistina. Un polisacárido soluble adicional es manana. En algunas levaduras los lípidos que contienen fósforo y nitrógeno también son abundantes en la pared (17).

1.7 Metabolismo y Propiedades Bioquímicas.

Los hongos son heterófilos, requieren alimento orgánico y la mayoría son aerobios obligados. Algunos sin embargo son facultativos, pero ninguno anaerobios obligados (17).

Odds y Abbott han utilizado un método para determinar las características de cepas de Candida albicans. consta de: Crecimiento a pH 1.40, producción de proteínasa, resistencia a 5-fluorocytosina (5-FC) a 25 µg/ml, asimilación de urea, asimilación de sorbosa, tolerancia a la sal, asimilación de citrato, asimilación de glicina, resistencia a safranina (7).

Otras pruebas bioquímicas se muestran en el apéndice.

1.8 Patogenicidad de las Infecciones causadas por Candida albicans.

Este microorganismo habita en el tubo digestivo de una gran proporción de personas sanas, en las vías respiratorias altas y en la cavidad bucal. Asimismo, se encuentra en la vagina de una gran cantidad de mujeres sanas.

El desarrollo de este parásito es inhibido, en gran parte, por el desarrollo de otros microorganismos presentes en las regiones anatómicas mencionadas. Sin embargo, cuando cualquier factor interfiere con la proliferación de los demás miembros de la flora microbiana, éste se mu

Lípica con rapidez y se torna patógeno. La infección por Candida, entonces, ocurre en personas bajo tratamiento - con antibióticos, el cual inhibe el desarrollo de las bacterias.

También sucede que los lactantes se infectan durante su paso por el canal del parto, si la madre alberga una - cantidad considerable del microorganismo en la vagina. Además de proliferar también en las personas que sufren, en - enfermedades que evitan el desarrollo de inmunidad celular - contra la infección, igualmente los medicamentos inmunosup - presores aumentan la frecuencia de las infecciones por es - te hongo. En su mayor parte, las infecciones del ser huero - no son provocadas por Candida albicans; pero ciertas in - fecciones de la piel, y especialmente la endocarditis, - suelen ser causadas por otras especies.

1.8.1 Tipos de Enfermedad.

Sería difícil demostrar que algún otro microorganismo produce un espectro tan diverso de enfermedades huma - nas como el de Candida albicans. Todos los tejidos y órga - nos son susceptibles a la invasión por este hongo, siem - pre que existan las condiciones adecuadas.

Rippon hizo una conveniente clasificación de las ma - nifestaciones clínicas de las infecciones por Candida al - bicans (32).

I. Enfermedades infecciosas.

A. Afección mucocutánea.

1. Bucales: glositis, estomatitis, queilitis, boqueras.
2. Vaginitis y balanitis
3. Infecciones bronquiales y pulmonares

4. Digestivos: esofagitis, trastornos entéricos y perianales
 5. Candidiasis mucocutánea crónica
- B. Afección cutánea
1. Candidiasis intertriginosa y generalizada
 2. Paroniquia y onicomicosis
 3. Enfermedades del pañal (candidiasis de los pañales o compresas)
 4. Granuloma por candidiasis
- C. Afección generalizada
1. Aparato urinario
 2. Endocarditis
 3. Meningitis
 4. Septicemia
 5. Candidemia intrógena

II. Enfermedades alérgicas.

- A. Candididosis
- B. Eccema
- C. Asma
- D. Gastritis

1.9 Inmunología de Candidiasis.

Serodiagnóstico de enfermedades fúngicas. Una consideración metódica de signos, síntomas y datos epidemiológicos pueden resultar en un diagnóstico clínico adecuado de una enfermedad micótica; sin embargo, tal diagnóstico presuntivo debe ser confirmado por cultivos estandar y procedimientos histológicos de laboratorio. Desafortunadamente, el diagnóstico de una infección micótica no puede siempre ser probada por cultivo o histología, a pesar de esfuerzos repetidos. En tal situación, procedimientos inmunológicos pueden ser usados para proveer una rápida y -

presuntiva evidencia de la infección, además las reacciones inmunológicas pueden dar las primeras pruebas de existencia de una infección fúngica. Las pruebas serológicas también pueden dar información de los efectos de quimioterapia y, en muchos casos, llevar a un aumento de esfuerzo para aislar e identificar el agente etiológico.

1.9.1 Ensayos inmunológicos para determinación de candidiasis.

Las pruebas de aglutinación en latex (LA), inmunodifusión (ID) y contraelectroforesis (CE) son valiosas en el diagnóstico de candidiasis sistémica en el huésped inmunológicamente intacto. En contraste las pruebas serodiagnósticas de candidiasis por aglutinación y fijación de complemento (CF) se ha probado que son de poco valor debido a la respuesta positiva en sujetos sanos y en personas con candidiasis superficial sin involucración sistémica. Resultados negativos de estas pruebas pueden ser de valor en la exclusión de candidiasis sistémica como diagnóstico.

Pacientes inmunodeprimidos a menudo fallan a producir anticuerpos, así, una prueba negativa no necesariamente descarta la enfermedad. Tales pacientes pueden estar en un estado de exceso de antígeno, así que las pruebas para antígeno serán positivas.

La antigenemia ocurre cuando el polisacárido manana se pierde de la pared celular de Candida y persiste por pocos días en el plasma. Mananemia también se ha detectado en laboratorios en los cuales se usan diversos métodos de detección en pacientes con candidiasis mucocutánea crónica. Para poder cubrir efectivamente los niveles clínicos de mananemia, una prueba debe ser capaz de detectar -

niveles bajos (nanogramos por mililitro) de mamaria; tales condiciones son satisfechas por RIA ó EIA (radioinmunoensayo y enzima inunecoabsorbente) (25).

Indicaciones Clínicas.

Las pruebas para anticuerpos de especies de Candida- LA, ID o CIE deben ser aplicadas al cuerpo de pacientes con candidemia persistente, pneumonitis, endocarditis o absceso intraabdominal, y a catóteres urinarios o intravenosos. Pacientes debilitados -aquellos que han recibido agentes inmunosupresores, curso prolongado de antibióticos antibacteriales, ó terapia citotóxica para el cáncer- quienes son granulocitopénicos y desarrollan fiebres sin explicación, deben ser probados para investigación de anticuerpos contra especies de Candida y antigenemias.

Las pruebas serológicas son generalmente usadas para asegurar el significado clínico de los aislamientos de Candida. La detección de precipitina o el reconocimiento de cambios en títulos de aglutinación es considerado pruebas presuntivas de candidiasis sistémica. Estos hallazgos también pueden indicar colonización o candidiasis transitoria. Las pruebas ID, CIE, y LA tienen una sensibilidad de un 90% para casos probados de candidiasis en pacientes inmunológicamente intactos. Las pruebas de CIE o ID son las más específicas. Las reacciones cruzadas extragenéricas solo ocurren con anticuerpos de Torulopsis glabrata - (25).

A) Ensayo de Inmunodifusión.

Principio.

Los ensayos de precipitación, además de realizarse en medio líquido, también son llevados a cabo en medio sólido, como agar, en el cual se permite difundir uno o ambos constituyentes hacia o contra el otro. Una solución de agar es depositada en una caja petri; se crean unos pocitos en el gel; y se deposita en ellos antígeno y anticuerpo. Durante la incubación, antígeno y anticuerpo se difunden uno hacia el otro desde los pocitos e interactúan para formar precipitinas en el agar. Cuando se obtienen concentraciones óptimas, un precipitado se formará haciéndose visible a través del agar como una banda distinta o como un línea.

En la inmunocuantificación el agar es impregnado con el anticuerpo y el material a probar es puesto en pocitos. El diámetro de los anillos concéntricos que se forman son directamente proporcionales a la concentración del antígeno en cuestión (15).

Interpretación.

De acuerdo con el Manual de Microbiología Clínica (17); la producción de una o más líneas por un suero que interacciona con antígeno constituye una reacción positiva ya sea el antígeno al cual el anticuerpo está dirigido sea manana o proteína. Se debe sospechar de candidiasis sistémica cuando se demuestra conversión serológica en especies séricas seriadas (como cuando las pruebas de anticuerpo negativos se vuelven positivos) o muestran aumento en el número de precipitina (25).

B) Ensayo de Enzima Inmunoabsorbente Enlazada. (ELISA).

Principio.

Las pruebas inmunológicas de enzimas están basadas - en la suposición de que un anticuerpo o un antígeno puede ser unido a la enzima y el complejo resultante retendrá - ambas actividades inmunológicas y enzimáticas.

Variaciones en metodología proveen para la detección de antígeno o de anticuerpo. Si se va a detectar antígeno entonces la proteína de anticuerpo es unida a una fase sólida. La incubación con antígenos homólogos inicia el sandwich antígeno-anticuerpo. Después de remover el antígeno que no se ha unido, un segundo anticuerpo homólogo - conjugado a una enzima es adicionada a la mezcla y es unida al complejo original antígeno-anticuerpo. La adición - de un sustrato enzimático cromogénico específico a este sandwich permite la visualización del complejo (24).

Interpretación.

Para detectar antigenemia de manana. Se ha detectado un antígeno termoestable de polisacarido manana por el método de EIA (enzima inmunoabsorbente) en el suero de congijos inmunodeprimidos infectados con Candida albicans y en humanos. La sensibilidad de detección es 65 a 70% en pacientes humanos con cáncer. La especificidad es de 100%. Debido a que manana no es un constituyente normal del suero, concentraciones mayores de 2 ng/ml son pruebas presuntivas de infección. El límite de sensibilidad de mananemia en EIA es 1 ng/ml de suero. Se detecta la manana de Candida albicans A y Candida tropicalis. La mananemia puede ser un evento transitorio y se aconseja una vigilancia cercana de los pacientes. Los pacientes que reciben drogas inmunosupresoras sistémicas, que son profundamente granulocitopénicos deben ser revisados dos veces por semana. Al mismo tiempo se deben hacer cultivos de sangre (25).

1.10 Descripción de la prueba de Aglutinación.

Principio.

La reacción entre anticuerpo y un antígeno particular, suele denominarse reacción de aglutinación. El antígeno puede ser una partícula, una bacteria, un glóbulo rojo o una levadura; o bien un antígeno soluble preparado en forma de partículas, por adsorción a éstas, o acoplamiento con una partícula, empleando para la adsorción bolitas de látex o glóbulos rojos.

Si la sangre o el suero de un animal previamente inmunizado contra una bacteria se mezclan con una suspensión de microorganismos estos últimos se inmovilizan al poco tiempo y se reúnen para formar grandes acúmulos celulares. En la prueba de aglutinación en portaobjetos, utilizada generalmente para ensayo rápido, se emplea el antígeno como suspensión latexcente y el antisuero se utiliza sin diluir, o sólo ligeramente diluido; las bacterias o (levaduras) suspendidas se reúnen en presencia de anticuerpo homólogo en un minuto o dos, y dan a la suspensión un aspecto granular (2).

Al igual que las reacciones de precipitación, las pruebas de aglutinación requieren un pH apropiado y la molaridad de amortiguadores salinos (para que sean estables los complejos formados con el antígeno y el anticuerpo) y debe existir una proporción adecuada del antígeno respecto del anticuerpo (para que ocurra la óptima combinación cruzada del antígeno con el anticuerpo). Cuando la concentración es suficiente para permitir que todos los sitios antigénicos de las partículas queden ocupados por moléculas solas del anticuerpo, no se forman combinaciones cruzadas entre las partículas y se produce una prueba de a-

glutinación falsamente negativa; a esta inhibición de la aglutinación en casos de exceso de anticuerpo, se lo conoce como el fenómeno de la prozona (fig. 2), porque aparece antes de la zona de aglutinación cuando se hace la -- prueba con cantidades constantes de antígeno en partículas colocadas en tubos, con diluciones variables de un anticuerpo (22).

La dilución más elevada que produce una reacción visible es lo que se conoce como el título de anticuerpo. - Se recomienda que las diluciones seriadas empiecen en una proporción de 1:2 o un múltiplo de este número (1:4, 1:8 y así sucesivamente) y que aumenten mediante una dilución por duplicado (19).

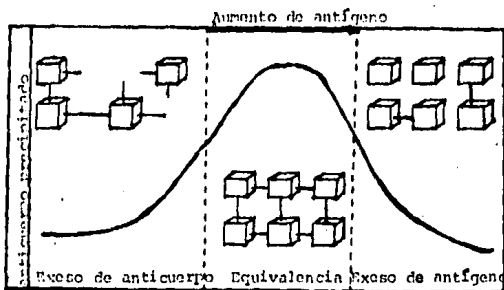


Figura 2. Representación esquemática de una curva cuantitativa de precipitación (15).

- Anticuerpos.
- ☐ Antígenos.

Prueba de Aglutinación en Latex.

Principio.

En algunos sistemas, los complejos de antígeno-anticuerpo producen un indicador visible de la reacción, por ejemplo, un precipitado o aglutinación de partículas, como bacterias. La reacción de aglutinación puede amplificarse para el caso de los antígenos sin partículas mediante revestimiento de partículas, tales como eritrocitos o esferas de látex, con el anticuerpo (19).

Interpretación.

Un título serológico de 1:8 o mayor es considerado - prueba presuntiva de candidiasis sistémica. Los pacientes cuyo suero es positivo a aglutinación en látex a 1:4 y además precipitinas demostradas en la prueba de inmunodifusión, son referidos de tener una posible infección temprana o de estar colonizados. Un paciente cuyo suero muestra solo un título de aglutinación en látex de 1:4 puede tener una enfermedad temprana, estar colonizado, o mostrar una reacción no específica (25).

Debido a la elevada proporción de personas sensibles al antígeno de Candida, muchos sueros aglutinan específicamente las células de este hongo. Los títulos aglutinantes tienden a ser superiores en individuos que presentan candidiasis franca, pero las diferencias son en general - pequeñas; por ello las pruebas serológicas poseen poco valor diagnóstico (18). Sin embargo las reacciones de aglutinación son la base de la mayor parte de las técnicas comúnmente empleadas en el laboratorio de inmunología pues tienen un alto grado de sensibilidad y existe una enorme variedad de sustancias identificables.

1.11 Objetivo del trabajo.

Candida albicans es el patógeno humano oportunista - más frecuentemente aislado, variando ampliamente en sus manifestaciones clínicas. La incidencia de candidiasis está aumentando debido a factores tales como terapia prolongada con antibióticos de amplio espectro, desórdenes hematólogicos, problemas inmunológicos, terapias inmunosupresivas, alimentación parenteral y catéteres intravenosos, diálisis parenteral y trasplantes de órganos(3).

De esta problemática ha resultado la necesidad rutinaria de identificación presuntiva de levaduras en especímenes clínicos y el subsecuente desarrollo de sistemas de identificación comercial (2). La demostración microscópica de la existencia de levaduras y pseudomicelio en las lesiones nos dá solo un diagnóstico presuntivo de candidiasis, por lo cual se tiene que realizar el aislamiento por cultivo. El laboratorio juega un papel importante en el aislamiento e identificación de Candida y proporciona una ayuda al clínico a distinguir entre colonización simple y significación etiológica. De tal manera que el diagnóstico y tratamiento eficaz de la candidiasis depende de una adecuada identificación del agente causante, terapia específica y restauración del ecosistema normal.

Dado que no existe en nuestro medio un estudio sero-epidemiológico sobre incidencia y prevalencia de la especie Candida albicans de aislamientos a partir de muestras biológicas, se decidió realizar este trabajo de investigación con el objetivo de demostrar de la manera más exacta los datos anteriormente señalados, a la vez de introducir una metodología menos sofisticada que la que reporta la literatura, sin que ello implicara pérdida de especificidad y sensibilidad, reuniendo los requisitos de -

economía y rapidez.

Para alcanzar el objetivo de identificación de especie albicans, utilizando muestras de diferentes productos biológicos así como de diferentes laboratorios de diagnóstico microbiológico, una vez que quedó confirmada su morfología característica, se realizaron pruebas convencionales de laboratorio como con la filamentación en suero a las 3 horas y la formación de clamidias, oras en agar harina de maíz. Además se efectuó la comprobación serológica de especie, mediante el desarrollo de la reacción antígeno anticuerpo, utilizando como principal reactivo para esta prueba, Bacto Candida Albicans Antiserum (Difco, código 2281-47-1). Para reconfirmar dichos aislamientos y su comprobación serológica se procedió a efectuar las pruebas de fermentación y asimilación de azúcares (23).

2. MATERIAL Y METODO

2.1 Procedencia de las cepas.

Para la determinación serológica de Candida albicans se seleccionaron un total de cien cepas identificadas presuntivamente como especie albicans en el laboratorio de diagnóstico. Las muestras procedieron de diferentes productos biológicos como fueron básicamente de exudado vaginal, exudado bronquial, orina, heces, etc. Las cuáles fueron proporcionadas por: 1) el laboratorio de Patología Clínica del Hospital Dr. Angel Lozano, 2) el laboratorio de Patología Clínica del Centro Médico de Occidente del IHSS, 3) el laboratorio de la Unidad de Patología Clínica 4) así como también del Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán (México D.F.).

2.1.1 Transporte de las Muestras.

Se prepararon viales de 5 cc a los cuales se les agregó 2.5 ml de agar peptona donde debían ser sembradas, almacenadas y transportadas las cepas de trabajo.

2.2 Metodología Microbiológica.

2.2.1 Reaislamiento.

Dichas cepas se reaislaron en agar BCG, modificación Elizabeth Rodríguez (29), utilizando el método de estriación. Se incubaron a temperatura ambiente por 48 horas, obteniéndose desarrollo de colonias mucoides, cromosas, convexas con bordes regulares, de 1-2mm de diámetro, algunas toman una pigmentación azul-verde que es más intensa

en el centro.

2.2.2 Microscopía.

Se corroboró su morfología mediante la microscopía de las colonias resuspendidas en el cultivo, con la utilización de la tinción de Gram, observándose al microscopio células tipo levadura gram positivas de 2-4 micras (fig. 3A).

2.2.3 Reconfirmación bioquímica de especie albicans.

Una vez que se confirmó su morfología característica se procedió a reconfirmar su categoría presuntiva de especie albicans a través de las pruebas utilizadas en el laboratorio, las cuáles son: filamentos en suero y formación de clamidosporas en agar harina de maíz.

A) Comprobación de producción de pseudomicelio en suero.

Las cepas que mostraron morfología positiva a levadura se sometieron a filamentos en suero, como se explicó anteriormente en la página 7; después de 3 horas se observó al microscopio que aparecieron células con producción de pseudomicelio.

B) Prueba de producción de clamidosporas.

Al darnos la prueba anterior positiva a la producción de pseudomicelio, podría bastar para reportarse la Candida como especie presuntivamente albicans, pero para comprobar nuestros resultados practicamos la producción -

de clamidosporas en agar harina de maíz.

La técnica de sembrado utilizada para la demostración de la producción de clamidosporas fué la siguiente: Se rasga el medio con el asa cargada de levadura que se obtuvo de una colonia aislada en medio BCG, haciéndose una línea recta, después con la misma asa se estría paralelamente a lo largo de la rasgadura (fig. 3B).

Estas se incubaron a temperatura ambiente por 48 horas o más, al cabo de las cuales se observaron la producción de clamidosporas.

La observación se hizo al microscopio con objetivo dúbil colocando la caja petri conteniendo la muestra en la platina. La caja petri se colóca con el fondo hacia arriba para mejor visión, de preferencia sin abrirse. Las-

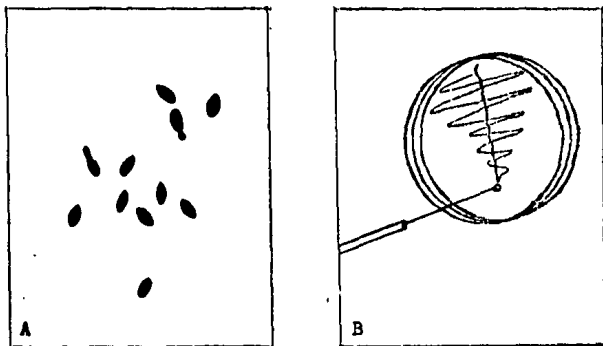


Figura 3. A) Candida albicans, forma de levadura, tinción de Gram. X1350. B) Técnica de sembrado para la producción de clamidosporas.

clamidosporas se observan más abundantes a lo largo de la estría, con pared gruesa, pueden ser terminales o intercaladas a lo largo del pseudocolio, que también puede producir blastosporas.

2.3 Comprobación serológica de especie albicans mediante desarrollo de la reacción de Aglutinación Antígeno-Anticuerro.

Para la comprobación serológica, que fué el principal objetivo de este trabajo, se realizó la aglutinación macroscópica en portaobjetos, utilizando antisuero de Difco: Bacto Candida Albicans Antiserum.

2.3.1 Procedencia del Reactivo.

Bacto Candida Albicans Antiserum es un antisuero de conejo absorbido y decocado, preparado de acuerdo al procedimiento descrito por Rosenthal y Gurnari. Se prepara con Candida albicans, es absorbido con otras especies de Candida y es específico para Candida albicans, con la excepción de que reacciona ligeramente con Candida tropicalis y Candida stellatoidea.

2.3.2 Rehidratación

Para la rehidratación de Bacto Candida Albicans Antiserum, se añadieron 3 ml de cloruro sódico al 0.85% por vial y se agitó suavemente para efectuar una completa dilución.

2.3.3 Procedimiento.

A) Material.

- Bacto Candida Albicans Antiserum
- Agar BGG
- Portaobjetos de vidrio para microscopio
- Asa bacteriológica
- Mechero de Bunsen
- Solución de NaCl al 0.85%
- Pipeta serológica

B) Preparación del organismo.

1. Se hizo crecer el cultivo a probar en agar BGG a temperatura ambiente.
2. Se preparó una suspensión abundante del cultivo - sospechoso en solución de cloruro sódico al 0.85% que contenía un 0.5% de fenol.

C) Prueba de Aglutinación macroscópica en portaobjetos.

1. Se añadió una gota del cultivo preparado al final de dos portaobjetos.
2. A esta gota se le añadió una gota de "Bacto Candida Albicans Antiserum".
3. A la segunda gota se le añadió una gota de cloruro sódico al 0.85% como control de la consistencia del cultivo.
4. Se mezclaron cada gota con un aplicador nuevo.
5. Se hizo rotar el portaobjetos a mano durante 20 o 30 segundos.
6. Se observó la aparición de aglutinación.

D) Resultados.

La aglutinación de la suspensión a probar debe ser rápida y completa si es positiva para Candida albicans.

E) Controles.

Como control positivo de Candida albicans, y debido a que este antisuero dá reacciones cruzadas con Candida - stollatoidea, se obtuvieron controles que fueron facilitados por la American Typing Culture Collection en Houston, Texas:

Candida albicans ATCC No. 44076

Candida stollatoidea ATCC No. 11006

Dichos controles fueron sometidos a las mismas pruebas que las muestras problema, obteniéndose resultados - congruentes con sus respectivas características bioquímicas.

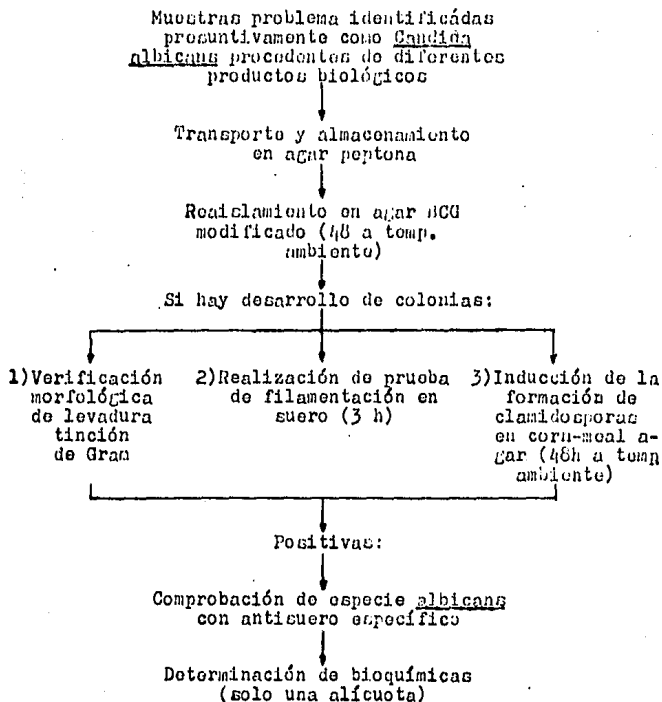
Como control negativo de aglutinación utilizamos una copa de Staphylococcus aureus.

2.4 Fermentación y Asimilación de azúcares.

Como prueba confirmativa de nuestros resultados se - tomó una muestra aleatoria de 53 cepas que habían mostrado aglutinación positiva, junto con la demás batería de - pruebas de laboratorio, y se determinó su poder de fermentación y asimilación de hidratos de carbono por medio del sistema Quantum II de Abbott para la identificación de levaduras.

Diagrama No. 1

Diagrama de los pasos seguidos para llegar a la identificación de Candida albicans por medio de antisuero específico y comprobación de resultados.



3. RESULTADOS

De las cepas obtenidas, identificadas presuntivamente en los laboratorios como Candida albicans, se seleccionaron 100 de ellos que dieron la morfología microscópica de levadura, que presentarían filamentos en suero a las 3 horas y la producción de clamidosporas en agar cornmeal a las 48-72 horas.

La comprobación serológica de especie a las cepas que reunieron los requisitos anteriores, utilizando anti-suero específico, fué positivo a la aglutinación en un 100% (fig. 4).

El control utilizado de Candida albicans ATCC No. 44076, mostró aglutinación completa formando grandes grupos. En cambio, el control para reacción cruzada, Candida stellatoidea mostró aglutinación un poco más fina.

La prueba confirmativa de fermentación y asimilación de hidratos de carbono por medio del sistema Quantum II de Abbott nos produjo resultados positivos en un 91% de las reacciones de aglutinación.

Para mostrar de una manera más clara nuestros resultados sobre la obtención e incidencia de las diferentes muestras biológicas hemos realizado el siguiente cuadro.

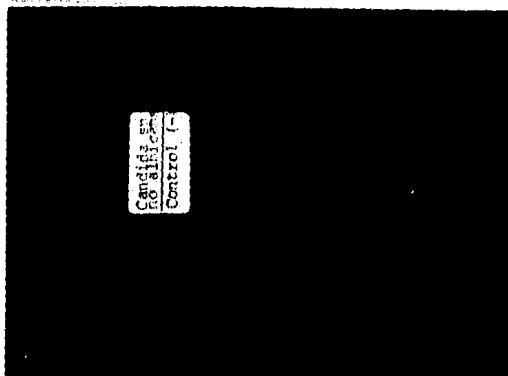
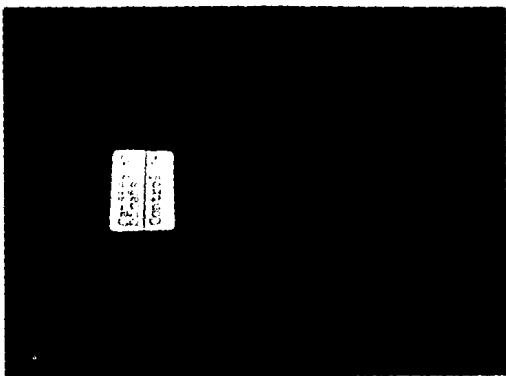


Figura 4. A) Reacción de aglutinación positiva a Candida albicans y control negativo. B) Reacción que muestra Candida sp. ambas con antisuero específico.

Cuadro No. 1

Cepas obtenidas de diferentes instituciones de diagnóstico microbiológico procedentes de distintas fuentes anatómicas.

No. de cepa	No. de cultivo HAL	Fecha de obtención de la muestra	Origen biológico	Laboratorio de procedencia	Observación microscópica del frotis	Prueba de filamentación	Prueba de formación de clatrificoras	Agitación en con agar + suero sanguíneo
1	130	I-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
2	340	I-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
3	345	I-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
4	390	I-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
5	19	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
6	81	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
7	82	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
8	83	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
9	119	II-86	Expectoración	HAL	+	+	+	+
10	120	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
11	136	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
12	160	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
13	218	II-86	Tragueostomía	HAL	+	+	+	+
14	235	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
15	244	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
16	268	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
17	276	II-86	Urocultivo	HAL	+	+	+	+
18	293	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+

Cuadro No. 1

Cepas obtenidas de diferentes instituciones de diagnóstico microbiológico procedentes de distintas fuentes anatómicas.

No. de cepa	No. de cultivo HAL	Fecha de obtención de la muestra	Origen biológico	Laboratorio de procedencia	Observación microscópica del frotis	Prueba de filamentación	Prueba de formación de clamidosporas	Agitación con el mismo sustrato
19	298	II-86	Expectoración	HAL	+	+	+	+
20	314	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
21	315	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
22	326	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
23	344	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
24	352	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
25	362	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
26	363	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
27	404	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
28	414	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
29	416	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
30	420	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
31	432	II-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
32	-	II-86	Sec. Transtraqueal	CM de O	+	+	+	+
33	-	II-86	Asp. cateter vesical	CM de O	+	+	+	+
34	-	II-86	Expectoración	UPC	+	+	+	+
35	-	II-86	Expectoración	UPC	+	+	+	+
36	-	II-86	Expectoración	UPC	+	+	+	+

Cuadro No. 1

Cepas obtenidas de diferentes instituciones de diagnóstico microbiológico procedentes de distintas fuentes anatómicas.

No. de cepa	No. de cultivo	Fecha de obtención de la muestra	Origen biológico	Laboratorio de procedencia	Observación microscópica del frotis	Prueba de filamentación	Prueba de formación de clindociotas	Inhibición con antiséptico específico
37	+	II-86	Expectoración	UPC	+	+	+	+
38	-	II-86	Expectoración	UPC	+	+	+	+
39	-	II-86	Expectoración	UPC	+	+	+	+
40	-	II-86	Vaginal	UPC	+	+	+	+
41	-	II-86	Vaginal	UPC	+	+	+	+
42	-	II-86	Vaginal	CM de O	+	+	+	+
43	-	II-86	Vaginal	CM de O	+	+	+	+
44	16	III-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
45	39	III-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
46	41	III-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
47	43	III-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
48	63	III-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
49	86	III-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
50	97	III-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
51	106	III-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
52	145	III-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
53	202	III-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
54	227	III-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+

Cuadro No. 1

Cepas obtenidas de diferentes instituciones de diagnóstico microbiológico procedentes de distintas fuentes anatómicas.

No. de cepa	No. de cultivo HAL	Fecha de obtención de la muestra	Origen biológico	Laboratorio de procedencia	Observación microscópica del frotis	Prueba de filamentación	Prueba de formación de clasticosporas	Agglutinación: con antiserum correspondiente
55	238	III-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
56	210	III-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
57	51	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
58	117	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
59	118	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
60	157	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
61	210	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
62	317	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
63	350	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
64	371	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
65	379	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
66	412	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
67	431	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
68	445	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
69	493	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
70	500	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
71	505	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
72	519	IV-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+

Cuadro No. 1

Cepas obtenidas de diferentes instituciones de diagnóstico microbiológico procedentes de distintas fuentes anatómicas.

No. de cepa	No. de cultivo HAL	Fecha de obtención de la muestra	Origen biológico	Laboratorio de procedencia	Observación microscópica del frotis	Prueba de filamentosión	Prueba de fermentación de almidón	Aglutinación con antisuero específico
73	-	IV-86	Coprocultivo	CM de O	+	+	+	+
74	-	IV-86	Coprocultivo	CM de O	+	+	+	+
75	-	IV-86	Coprocultivo	CM de O	+	+	+	+
76	-	IV-86	Urocultivo	INNSZ	+	+	+	+
77	-	IV-86	Urocultivo	INNSZ	+	+	+	+
78	-	IV-86	Expectoración	INNSZ	+	+	+	+
79	-	IV-86	Expectoración	INNSZ	+	+	+	+
80	-	IV-86	Resocultivo	INNSZ	+	+	+	+
81	-	IV-86	Vaginal	INNSZ	+	+	+	+
82	-	IV-86	Vaginal	UPC	+	+	+	+
83	-	IV-86	Vaginal	UPC	+	+	+	+
84	-	IV-86	Vaginal	UPC	+	+	+	+
85	39	V-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
86	169	V-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
87	171	V-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
88	220	V-86	Líquido biliar	HAL	+	+	+	+
89	280	V-86	Vaginal	HAL	+	+	+	+
90	298	V-86	Expectoración	HAL	+	+	+	+

Cuadro No. 1

Cepas obtenidas de diferentes instituciones de diagnóstico microbiológico procedentes de distintas fuentes anatómicas.

No. de cepa	No. de cultivo IAL	Fecha de obtención de la muestra	Origen biológico	Laboratorio de Pro- cedencia	Observación micros- cópica del frotis	Prueba de filamen- tación	Prueba de formación de clamidiosomas en cultivo	
91	377	V-86	Vaginal	IAI.	+	+	+	+
92	361	V-86	Vaginal	IAI.	+	+	+	+
93	389	V-86	Vaginal	IAI.	+	+	+	+
94	455	V-86	Vaginal	IAI.	+	+	+	+
95	-	V-86	Coprocultivo	CM de O	+	+	+	+
96	-	V-86	Urocultivo	CM de O	+	+	+	+
97	-	V-86	Expectoración	CM de O	+	+	+	+
98	-	V-86	Vaginal	UPC	+	+	+	+
99	-	V-86	Vaginal	UPC	+	+	+	+
100	-	V-86	Vaginal	UTC	+	+	+	+

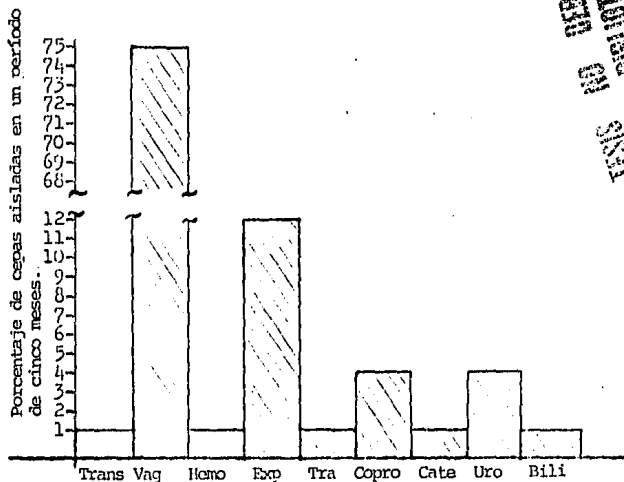
-H.A.I. Hospital Dr. Angel Icaño.

-C.M. de O. Centro Médico de Occidente del IMSS.

-U.P.C. Unidad de Patología Clínica.

-I.N.N.S.Z. Instituto Nacional de la Nutrición Salvador Zubirán.

Figura No. 5. Gráfica que muestra la relación de la frecuencia y procedencia biológica de cepas de Candida albicans.



Procedencia Biológica

- Trans: Aspiración de secreción transtraqueal
- Vag: Vaginales
- Exp: Expectoración
- Tra: Traqueostomía
- Copro: Coprocultivo.
- Uro: Urocultivo
- Bili: Líquido biliar.
- Hemo: Hemocultivo

ESTE MATERIAL
 DEBE SER
 DESTROYED
 DESPUES DE LA
 RECEPCION DE LA
 INFORMACION

4. CONCLUSIONES

Según se ha demostrado en este trabajo, apoyandonos en los resultados de las bioquímicas realizadas en el - Quantum II, el 91% de las cepas que aglutinaron con el antisuero específico, fueron en realidad Candida albicans, - pudiéndose atribuir el porcentaje restante a otras especies de Candida como es stellatoidea.

Se puede decir que el procedimiento de la reacción - es rápido y demasiado sencillo para permitir errores técnicos que puedan darnos falsos positivos o negativos en - la aglutinación. Además de su bajo costo, el reactivo es de fácil adquisición, y no requiere de cuidados especiales aparte de la refrigeración.

Para aquellos laboratorios de diagnóstico microbiológico, en que la prueba de producción de clamidos, es represente un procedimiento que requiere de mucho tiempo, y que la fermentación y asimilación de hidratos de carbono sea una práctica incosteable o laboriosa, si se prepara - sus propios medios, el antisuero ha probado ser, en un alto porcentaje, confiable para incluir su uso en la identificación de esta levadura patógena.

También se ha podido confirmar que en el medio estudiado existe un elevado porcentaje de candidiasis vaginal ya que el 75% de las muestras que obtuvimos procedieron - precisamente de exudado vaginal. Esto puede ser debido a que en la vagina existe un ambiente muy favorable para el desarrollo de Candida, que es más visto en pacientes diabéticos (probablemente debido a la alta concentración de azúcar en la orina) y durante el embarazo (tal vez debido al contenido anormal de glicógeno en el epitelio vaginal) (20). La segunda fuente de que más se aisló el organismo en nuestra investigación fué de expectora- -

ción con un 12%, donde se ha dicho que se puede alojar en pródicamente (14). El aislamiento de la levadura en orina y heces, puede ayudar al diagnóstico clínico, si el paciente muestra algunos signos y síntomas que puedan orientar al médico.

El hallazgo de Candida albicans en muestras de aspiración cateteral vesical, homocultivos, traqueostomía, etc. es un dato que se debe considerar delicado, pues lo más seguro es que ya está ocasionando un grave problema al paciente.

5. A P E N D I C E .

Asimilaciones y fermentaciones
de hidratos de carbono
de algúans especies de Candida.

Apéndice I.

Características de las especies de Candida más frecuentemente aisladas en muestras clínicas (23).

	Asimilaciones										Fermentaciones			Otras								
	Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Lactosa	Galactosa	Melchiosa	Celobiosa	Inositol	Milosa	Rafinosa	Trehalosa	Dulcitol	Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Lactosa	Galactosa	Trehalosa	Ureasa	KOH	Sedimentación	Tubo germinal
<i>Candida albicans</i>	+	+	+	-	+	-	-	+	-	+	-	AG	AG	N°	-	AG	AG	-	-	-	+	+
<i>C. stellatoidea</i> *	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	-	AG	AG	-	-	-	-	-	-	-	+	+
<i>C. parapsilosis</i>	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	-	AG	-	-	-	AG	AG	-	-	-	-	+
<i>C. tropicalis</i>	+	+	+	+	-	+	-	+	+	+	-	AG	AG	AG	-	AG	AG	-	-	-	-	-
<i>C. pseudotropicalis</i>	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	-	AG	-	AG	AG	AG	AG	+	-	-	-	-
<i>C. krusei</i>	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	AG	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
<i>C. guilliermondii</i>	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	AG	-	AG	-	AG	AG	-	-	-	-	+
<i>C. rugosa</i>	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+

- Asimilación, densidad de desarrollo superior al patrón de turbidez 1 - de Wickerham; AG, ácido y gas; A, ácido producción sólo en el caldo de fermentación; -, negativa.

* Variación de copa.

† Informar C. albicans cuando se identifica C. stellatoidea.

6. BIBLIOGRAFIA

1. Araj G., Hopfer R., Chesnut S., Fainstein V., and Bodey G. Sr.; Diagnostic value of the enzyme-linked - immunosorbent assay for detection of Candida albicans cytoplasmic antigen in sera of cancer patients. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 16: No. 1, 1982, - pag. 46-52.
2. Brawner L., and Cutler J., Variability in expression of a cell surface determinant on Candida albicans as evidenced by an agglutinating monoclonal antibody. - Infection and Immunity, Vol.45: No.3, 1984, pag. 966 -972.
3. Casal R., Linares S., Preliminary investigation of - Candida albicans biovars, Journal of Clinical Microbiology, Vol.18: No.2, 1983, pag. 430-431.
4. Friedrich E. Jr., M.D., Vaginitis. American Journal of Obstetrics and Gynecology, Vol. 152: No. 3, 1985, pag. 247.
5. Furman R. and Ahearn D., Candida ciferrii and Candida chiropterorum isolated from clinical specimens. - Journal of Clinical Microbiology. Vol. 18: No. 5, - 1983, pag. 1252-1255.
6. Garrocho S. C., Dr., Q.F.B. Nava A., Q.F.B. Ruiz Ch. Dr. Torres R., Candidiasis y tricomoniasis vaginal. - ¿Pueden diagnosticarse clinicamente con seguridad? - Ginecología y Obstetricia de México. Vol. 51: No.316 1983, pag. 199.
7. Odds F.C., Abbott A.B., Steller R., Scoler H., Polak A., and Stevens D.A., Analysis of Candida albicans - phenotypes from different geographical and anatomical sources. Journal of Clinical Microbiology. Vol. - 18: No. 4, 1983, pag. 849-857.
8. Polonelli L., Archibusacci C., Sestito M., and Morace G., Killer system: a simple method for differentiating Candida albicans strains. Vol. 17: No. 5, 1983, pag. 774-780.

9. Reinhardt J.F., Ruano P.J., Walker J.L., and Lance G. W. Intravenous catheter-associated fungemia due to Candida rugosa. Journal of Clinical Microbiology. - Vol. 22: No. 6, 1985, pag. 1056-1057.
10. Repentigny L., Reiss J. Current trends in immunodiagnosis of Candidiasis and Aspergillosis. Reviews of Infectious Diseases. Vol. 6: No. 3, 1984, pag. 301.
11. Repentigny L., Kuykendall R.J., Candler F.W., Brodeur son. Comparison of serum mannan, arabinitol, and mannose in experimental disseminated candidiasis. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 19: No. 6, 1984, pag. 804-812.
12. Schitzer, R.L. and Ahearn D.G. Characterization of a typical Candida tropicalis and other uncommon clinical yeast isolates. Journal of Clinical microbiology. Vol. 15: No. 3, 1982, pag. 511-516.
13. Strodkbine A. N., Iargen M.T., and Buckley. Production and characterization of three monoclonal antibodies to Candida albicans proteins. Infection and Immunity. Vol. 43: No. 3, 1984, pag 1012-1018.
14. Witkin S. Ph.D. Defective immune responses in patients with recurrent candidiasis, Infections in Surgery. Vol. 3: No. 46, 1985, pag. 677.
15. Bellanti J. A. Immunology II, Second edition, E.U.A. Editorial W.B. Saunders Company, 1978.
16. Conant, Smith, Baker, Callaway. Micología. Tercera Edición, México; Editorial Interamericana, 1972.
17. Davis D.B., Dubelcco R., Ginsberg H. S. Microbiology, Third Edition. E.U.A. Harper & Row Publishers, 1980.
18. Davis, Dubelcco, Cien, Ginsberg, Wood. Tratado de Microbiología. Segunda edición. México; Editorial Salvat, 1984.
19. Davidson H.N., Israel M.D., Henry J.B. Todd-Sanford, Diagnóstico Clínico por el Laboratorio. 6ta. Ed. -- México; Editorial Salvat, 1983.
20. Emmons C.W., Chapman H.B. Utz J.P., Kwon-Chung. Medical Mycology. Third edition, E.U.A.; Ed. Lea & Febiger.

21. Freeman B.A. Tratado de Microbiología de Burrows. - 21a. Edición. México; Editorial Interamericana, 1983.
22. Gordon B.I. Lo esencial de la inmunología. Segunda edición. México. Editorial El Manual Moderno S.A. 1975.
23. Koneman, Allen, Dowell, Sommers, Diagnóstico microbigráfico. Primera Edición. México; Editorial Panamericana, 1983.
24. Lennette E., Balows A., Hausler W.J., Shadomy H.J. - Manual of Clinical Microbiology: Third Edition. E.U. A.; American Society for Microbiology, 1980.
25. Lennette E., Balows A., Hausler W.J., Shadomy H.J. - Manual of Clinical Microbiology, Fourth Edition. E.U. A.; American Society for Microbiology, 1985.
26. Martínez C.J., Manual del 1er. Curso Nacional sobre taxonomía y biotecnología de las levaduras. Recopilación del IPN (elaborado por: Lodder J., Kröger van R.J., Sally A. Moyer, Kurtzman D.D., Fell J.W.). Manual de recopilación de técnicas y procedimientos utilizados para el estudio taxonómico de las levaduras. México; 1984.
27. Moss & McQuown. Atlas of Medical Microbiology. Third Edition. E.U.A.; Ed. The Williams & Wilkins Co., 1960.
28. Robbins, Angell, Kumar. Basic Pathology. Third Edition. E.U.A.; Ed. W.B. Saunders Co. 1981.
29. Rodríguez Trujillo Elizabeth. Importancia del diagnóstico precurativo de Candida albicans mediante el primer aislamiento en agar base para Candida con verde de bromocresol (BCG) en pacientes con diagnóstico de vaginitis. Tesis para obtener el grado de Q.F.B. Guadalajara, Jal., Méx. 1986.
30. Smith, Conant, Overman, Beard, Willett, Larsh, Amos, Emijewsk, Glassman, Osterhout, Sharp. Microbiología de Zinsser. Tercera edición, México; Ed. UTNEA, 1985.
31. White, Handler, Smith. Principios de Bioquímica. México; Editorial Libros McGraw-Hill, 1977.
32. Youmans G.P., Paterson F.Y., Sommers H.M. Infectología Clínica. Segunda edición, México; Ed. Interamericana, 1984.

INSTANESIS

TESIS • INFORMES • MEMORIAS
COPIAS • REDUCCIONES • EN-
CUADERNADO • IMPRESIONES •
COPI-OFFSET • TRANSCRIPCIO-
NES IBM EN LINO • DIBUJO DE
GRAFICAS, PLANOS Y ORGANI-
GRAMAS • HELIOGRAFICAS •
REVELADO KODAK.

ENRIQUE G. MARTINEZ No. 30
(ANTES PARROQUIA)
TEL. 13-99-23 GUADALAJARA