



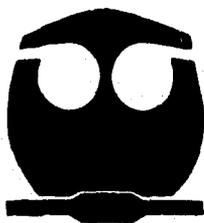
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

TIPIFICACION BIOQUIMICA (API YEAST 20) DE
HONGOS LEVADURIFORMES, AISLADOS DE
PACIENTES CON MICOSIS POR OPORTUNISTAS,
EN EL HOSPITAL JUAREZ DE MEXICO, S.S.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
P R E S E N T A I
CATALINA MONROY CAMPECHE



MEXICO, D. F.

1996

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

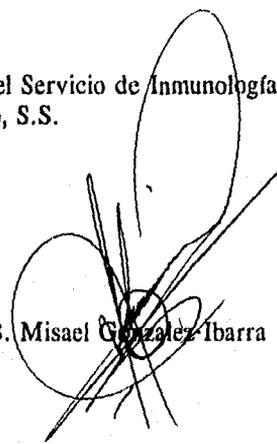
JURADO ASIGNADO

Presidente:	Prof. Manuel Wong Chío
Vocal:	Prof. José Alejandro Bonifaz Trujillo
Secretario:	Prof. Misael Gonzalez Ibarra
1er. Suplente:	Prof. Ana Esther Aguilar Cárdenas
2do. Suplente:	Prof. Mercedes Edna García Cruz

Sitio donde se desarrolló el tema: Laboratorio del Servicio de Inmunología y Micología Médica del Hospital Juárez de México, S.S.

Asesor del tema:

Q.F.B. Misael Gonzalez Ibarra



Sustentante:

Catalina Monroy Campeche



Doy gracias a **Dios** por haberme concedido la dicha de llegar al término de esta etapa de mi vida profesional.

Dedico este trabajo a

A **Martín** mi esposo por su amor, apoyo, paciencia y enseñanza.

A mi hija **Verónica** que es de la vida mi mejor regalo.

A mis padres **Lupita** y **Manuel** que fueron los primeros en guiar mis pasos y darme mis primeras lecciones.

A mis hermanos **Beatriz, Manuel, Valente, Andrés, Pilar** y **Francisco**.

A toda mi gran y hermosa familia.

A todos mis amigos.

AGRADECIMIENTOS.

QFB Misael Gonzalez Ibarra.

Dr. Daniel Aguilar Angeles.

Servicio de Inmunología y Micología Médica del Hospital Juárez de México S.S

Que hicieron posible la realización de este trabajo.

A la Dra. Maria C. Aguilera Cartas. Por el apoyo que hiciera posible este trabajo.

A todos mis compañeros del Laboratorio de Inmunología y Micología Médica del Hospital Juárez de México.

Y de una forma muy especial a la memoria de mis dos queridos amigos Alfonso y Salvador que siempre tuvieron una palabra agradable para mí.

INDICE

	pág.
INTRODUCCION	1
OBJETIVOS	3
GENERALIDADES	4
TAXONOMIA	6
METABOLISMO	8
HONGOS LEVADURIFORMES	11
- ASPECTOS MICROMORFOLOGICOS	11
- ASPECTOS MACROMORFOLOGICOS	13
MICOSIS OPORTUNISTAS POR HONGOS LEVADURIFORMES	14
- CANDIDOSIS	14
- CRIPTOCOCOSIS	20
- OTRAS MICOSIS POR HONGOS LEVADURIFORMES	23
DIAGNOSTICO MICOLOGICO	24
METODOLOGIA	32
- UNIVERSO	32
- CRITERIOS DE INCLUSION	32
- CRITERIOS DE EXCLUSION	32
- CRITERIOS DE ELIMINACION	33
- PROCEDIMIENTO	33
ESTUDIOS MICOLOGICOS	34
-TOMA DE MUESTRA	34
-CULTIVOS	35
-PRUEBAS ESPECIFICAS	35
RESULTADOS	37
DISCUSION	52
CONCLUSIONES	57
ANEXOS	59
BIBLIOGRAFIA	65

INTRODUCCIÓN

Las micosis por oportunistas son producidas por hongos saprófitos inocuos, que en condiciones normales no causan infecciones al hombre y a los animales. De estos destacan las generadas por C. albicans, C. neoformans y Geotrichum sp.

Aunque hoy en día existe un mejor control de las infecciones por patógenos, las ocasionadas por oportunistas se han exacerbado debido a los grandes avances en medicina como la creación y uso de antibióticos de amplio espectro, esteroides, citotóxicos, el aumento de enfermedades como diabetes, neoplasias y SIDA. Así como los trasplantes de órganos.

Los hongos para actuar como oportunistas deben soportar una temperatura de 37°C, adaptarse a un medio de menor potencial de reducción y pH del hospedero. Una vez que de ambos lados se han cumplido los requisitos previamente descritos, se lleva a cabo un contacto parásito-hospedero, que puede ser exógeno o endógeno.

Estas infecciones se manifiestan a nivel de mucosas, piel y sistémicas. Su diagnóstico es sencillo e inmediato mediante exámenes directos o tinciones especiales, en los que se observa la forma parásita de los hongos. Deben hacerse cultivos de las muestras biológicas parasitadas en medios selectivos como Biggy-Nickerson, alpiste negro, agar de Sabouraud y agar extracto de

levadura. El problema que se ha presentado es que no siempre se cuenta con métodos sensibles para la tipificación correcta del agente causal. Este punto reviste importancia porque aunque ya sabemos que C. albicans es el más frecuente como oportunista, otras especies pueden estar involucradas, y es necesario que con los métodos bioquímicos actuales se identifique correctamente género y especie para instituir la terapia específica.

En el presente estudio se utilizará un método comercial (API yeast-20C) para la identificación bioquímica de especies de los géneros Candida , Torulopsis y Criptococcus. aislados de pacientes con enfermedades inmunosupresoras.

OBJETIVOS

- Examinar y cultivar muestras biológicas parasitadas con hongos levaduriformes de pacientes con manifestaciones clínicas de micosis por oportunistas.
- Tipificar por medio de pruebas fisiológicas y bioquímicas (zimograma, API yeast 20C) las cepas aisladas.
- Reportar los géneros y las especies que se encuentran relacionadas en las micosis por oportunistas.

GENERALIDADES

Ninguna clase de microorganismos ha estado más íntimamente asociado con el progreso y el desarrollo de la raza humana como los hongos levaduriformes.

Desde tiempos remotos se tiene conocimiento de su utilidad en la producción de vinos y fermentación del pan, sin embargo algunas especies pueden comportarse como gérmenes oportunistas y causar enfermedad en el hombre y en los animales.

Las primeras descripciones clínicas de infecciones por hongos levaduriformes oportunistas las realizó Hipócrates, en las que hizo referencia especialmente a las aftas o muguet causadas por Candida sp. en recién nacidos y pacientes debilitados. A mediados del siglo pasado se confirmó que esta infección se adquiere durante el paso del producto a través del canal del parto.

Bennet (1844) concluyó que el muguet era de etiología fúngica. Años después ésta se asoció con otras enfermedades como tuberculosis, muguet del lactante y candidosis vaginal entre otras. En la actualidad acompaña a cualquier entidad clínica con inmunosupresión como diabetes, cáncer o SIDA.

Grawitz (1877) describió el dimorfismo quedando en 1932 clasificado por Langeon y Talne dentro del género Candida.

En 1894 se describe la otra micosis por agente oportunista levaduriforme, la criptococosis.

Vouillemin (1901), agrupa a esta agente etiológico dentro del género Cryptococcus.

En Europa se considera como una infección de extrema malignidad, ya que generalmente se manifiesta a nivel cerebral, además que frecuentemente se asocia a otras enfermedades inmunosupresoras sobre todo cáncer. En la actualidad se considera a C. neoformans como la especie de mayor importancia.

Otra infección micótica por levaduriformes oportunistas es la torulopsis, Grimle (1955) observó los primero casos de ésta siendo Torulopsis glabrata la especie más frecuentemente aislada de pacientes inmunodeficientes. Es importante destacar que las manifestaciones clínicas de esta micosis son indiferenciables de las causadas por especies del género Candida, por lo que no ha existido interés sobre su tipificación bioquímica.^(1, 2)

TAXONOMIA

Los hongos levaduriformes constituyen un grupo de microorganismos que no está bien definido ni son homogéneos, los criterios para la clasificación exacta de las principales especies, sólo está dado por diferencias básicas entre ellas. Las primeras características que se toman en cuenta para su clasificación son: la apariencia microscópica de las células, la forma de su reproducción características fisiológicas (especialmente nutricionales) y características bioquímicas.^(3,4)

Las características fisiológicas y bioquímicas utilizadas para su clasificación son: utilización de compuestos de carbono; ya sea por fermentación o por asimilación de carbohidratos (auxonograma), asimilación de compuestos de nitrógeno, crecimiento en medios con vitaminas, en presencia de cloruro de sodio al 10% y a 37°C, formación de compuestos extracelulares, producción de ácido, amoníaco, de ésteres, resistencia a la cicloheximida, tolerancia al ácido acético al 1%, licuefacción de gelatina, crecimiento en medio de Canavanina-glicina-azul de bromotimol (para la diferenciación de C. neoformans var neoformans y C. neoformans var gattii), el porcentaje molar de guanina citosina (%mol G+C), la reasociación del DNA, estructura de la coenzima Q y reducción del cloruro de 2,3,5-trifeniltetrazolio (TTC).^(5,6,7)

Las levaduras se clasifican en tres grupos I: ascosporadas; II: basidiosporadas y III: anascosporadas (imperfectas).

Las levaduras ascosporadas son clasificadas en los Hemiascomycetes que incluyen dos familias, Saccharomycetaceae y Spermophthoraceae del orden Endomycetales. Las dos familias son distinguidas por la forma de las ascosporas.

La familia Sacharomycetaceae comprende cuatro subfamilias: Schizosaccharomycetoideas, cuya reproducción es exclusivamente por fisión. Saccharomycetoideae, que incluye a todas las levaduras cuyas posición de ascosporas es multilateral. Lipomycetoideae y Nadsoniideae, cuya gemación es bipolar.

Las levaduras que forman basidiosporas tienen una fase haploide en su ciclo de vida principalmente los Basidiomycetes. Son clasificados en tres grupos: Las que forman teliosporas, las Filobasidiaceae y el género Sterigmatosporidium.

El tercer grupo incluye levaduras que no forman ascosporas o basidiosporas, también llamadas levaduras imperfectas o anascosporadas. porque su reproducción únicamente es asexual por blastoconidios. (3, 5, 7)

METABOLISMO

Las reacciones metabólicas que toman lugar en las células levaduriformes y también en su medio circunvecino pueden realizarse mediante:

-Anabolismo o asimilación por biosíntesis de varios compuestos, tanto de los organelos internos como las mismas sustancias de la pared celular, este proceso requiere de energía.(reacciones endergónicas)

-Catabolismo o desasimilación proceso por el cual se lleva a cabo la degradación de macromoléculas.

Las reacciones involucradas liberan energía por lo que son llamadas exergónicas, mucha de ésta energía liberada es utilizada para las reacciones endergónicas.

La energía liberada es almacenada en compuestos fosforilados que tienen uniones altamente energéticas, como el 1,3 difosfoglicerato y 2 fosfoenolpiruvato, CoA fosforilada, entre otros.

a) Fosforilacion de sacáridos.

Los procesos de fosforilación se llevan a cabo en 2 partes:

1.- Las reacciones de fosforilación para el comienzo de la esterificación de las fuentes de carbono principalmente sacáridos para la descomposición de un hexosa en dos triosas.

2.- Las reacciones de fosforilación durante la conversión de triosas para la formación de piruvato.

- Primer estado de fosforilación. Un sacárido que es fermentado u oxidado primero debe ser fosforilado. La hexosa cinasa es la enzima más importante. Su actividad es inhibida por agentes activos tales como la dicloroetilsulfida (gas mustardo) sales de mercurio, quinonas y naftoquinonas.⁽⁸⁾

Otra fuente de carbono es la galactosa cuyo proceso de fosforilación requiere de 3 enzimas galactocinasa, hexosa 1, fosfouridil transferasa y UDP glucosa 4- epimerasa para su conversión de glucosa.

Existen tres vías de fosforilación de la glucosa, para ser utilizada en el metabolismo fúngico.

Primera vía: es la conversión de glucosa 6P a glucosa 1P que puede ser utilizada en la síntesis de carbohidratos, como el glucógeno, glucanas y mananas, polisacáridos del tipo de amilasa,

heteropolisacáridos entre otras. La conversión es catalizada por la fosfoglucomutasa.

Segunda vía: Es la conversión de glucosa 6P en fructosa 6P, catalizada por la glucosa 6P isomerasa y da lugar a una segunda fosforilación de fructosa 6P a fructosa 1,6 diP, bajo la acción catalítica de fosfofructocinasa para continuar con la glucólisis.

Tercera vía: Es un proceso oxidativo que tiene como producto 6-P-gluconato, el último producto de este proceso son pentosas principalmente ribosa, la cual es muy importante para la biosíntesis de ácidos nucleicos.

Segundo estado de fosforilación: Este proceso involucra la división de una hexosa fosforilada en dos moléculas de piruvato mediante procesos redox en la célula en presencia de iones magnesio. Esta reacción es catalizada por la fructosa 1,6 diP gliceraldehido 3 fosfato liasa (Clase II).

El piruvato formado en este segundo estado es un importante intermediario en el metabolismo de carbohidratos dentro de la célula levaduriforme, ya que puede seguir tres vías metabólicas primero, formación de ceto ácidos del ciclo de los ácidos tricarbónicos y la respiración, segundo, piruvato descarboxilasa que dispara la formación de acetaldehído, etanol o fermentación y tercero, forma el último paso para la gluconeogénesis.⁽⁸⁾

HONGOS LEVADURIFORMES

A) ASPECTOS MICROMORFOLOGICOS.

Las levaduras son polimorfas, adoptan distintas formas como esféricas, ovales, elípticas, cilíndricas o con extremos redondos. Su tamaño varía entre 2 y 4 μ de ancho y 2 a 8 μ de largo. Están formadas por pared celular, membrana fundamental, citoplasma, núcleo, mitocondrias, retículo endoplásmico, vacuolas y gránulos metacromáticos. (2, 9, 10)

La pared primaria cuando la levadura se ha dividido está formada principalmente de quitina, cuando ya es una célula madura o vieja es principalmente de mananas y β -glucanas.

En el caso de C. neoformans, su pared celular es muy rígida en su porción externa a la que se le llama cápsula y que está constituida principalmente por xilanas y dextranas. La membrana fundamental es semejante a las otras células.

Las levaduras se reproducen sexual o asexualmente. La reproducción asexual se lleva a cabo por dos métodos: gemación y división transversal o fisión.

La gemación es el procedimiento más común. Consiste en la formación de una o varias gemas que aparecen como pequeñas prominencias en la superficie de la célula, el núcleo se divide

por mitosis. En la fisión o división transversal, la célula se alarga un poco, su núcleo se divide en dos, y se forma un tabique transversal en su parte media, separando a la célula madre en dos células hijas uninucleadas.⁽¹¹⁾

La reproducción sexual puede realizarse entre dos células somáticas, (dos ascosporas), ambas haploides, que actúan como gametangios. La fecundación, copulación o conjugación puede efectuarse por isogamia o por anisogamia (heterogamia).

La isogamia se realiza entre dos células de aspecto semejante, por simple contacto de las mismas o por emisión de tubos de conjugación. La heterogamia es la conjugación de dos células de distintos tamaños, donde el contenido de la pequeña (masc.) pasa hacia la grande (fem.) a través del tubo de conjugación y en esta última se forma el cigoto.⁽¹²⁾

Cualquiera que sean los tipos de fecundación después de la formación del cigoto, éste experimenta meiosis en su núcleo, formándose dos o más núcleos haploides; rodeándose de citoplasma, de una membrana y de una pared, constituyendo así la ascospora; el cigoto se transforma en asca, generalmente son dos a cuatro, en ocasiones son una o varias ascosporas que se desarrollan y constituyen células vegetativas haploides, y en otros casos se conjugan y forman cigotos que a su vez forman células vegetativas diploides.⁽¹³⁾

Las formas de las ascosporas son muy diversas: esféricas, ovoides, reniformes, angulares, hemisféricas con un borde en la cara plana que les da el aspecto de sombrero, ó rodeadas de un anillo. En muchos casos sus formas constituyen características taxonómicas que diferencian a ciertos géneros y aun a diversas especies. (2, 3, 9, 10, 11)

B) ASPECTOS MACROMORFOLOGICOS.

Generalmente son colonias de aspecto mucoso, limitadas, algunas son brillosas (al envejecer lo pierden), otras rugosas, en algunos casos tienen colores rojizos, rosado, anaranjados o amarillentos, que se debe generalmente a la presencia de pigmentos carotenoides. (7, 12, 13)

MICOSIS POR AGENTES LEVADURIFORMES OPORTUNISTAS.

CANDIDOSIS

La candidosis es una infección netamente ocasionada por agentes oportunistas, ya que las especies de este género se encuentran colonizando al hombre como flora normal del tubo digestivo y de las regiones mucocutáneas. Por lo regular se encuentran en pequeñas cantidades en la boca de adultos normales sanos, sin embargo Candida está normalmente en la vagina de mujeres sanas no embarazadas en un 50% y puede incrementarse hasta un 75% en las embarazadas o en las mujeres que ingieren anticonceptivos.

La frecuencia de candidosis oral en recién nacidos está relacionada con los cuadros de vaginitis por candidosis durante el embarazo. También puede ser debido a biberones contaminados mal esterilizados ó aseo deficiente. Hoy en día está bien establecido que cualquier aumento de Candida en la boca del recién nacido, es presagio de enfermedad clínica.

a) Mucosas:

Candidosis oral (algodoncillo). Esta es la forma más común de enfermedad producida por el crecimiento excesivo de Candida en recién nacidos, las lesiones comienzan en forma de pequeñas áreas focales de colonización que se agrandan hasta convertirse en placas.

La membrana es bastante adherente a la mucosa principal y su extirpación deja una base roja.

En la enfermedad grave puede haber ulceración y necrosis de la membrana mucosa.

La candidosis oral también puede manifestarse en el paladar, en carrillos y comisuras de la boca.

En niños mayores y adultos, la candidosis oral crónica indica trastornos poliendócrinos o defecto en la inmunidad celular. En pacientes adultos, puede ser resultado de avitaminosis ligera, sobre todo de rivo flavina o diabetes complicada, desequilibrio poliendócrino, neoplasias avanzadas, administración de esteroides, antibióticos de amplio espectro e inmunosupresión, así como personas infectadas por VIH/SIDA.^{(1, 14, 15,}

^{16, 17)}

b) Genitales:

Candidosis vaginal. La diabetes, los tratamientos con antibióticos (principalmente los de amplio espectro), anticonceptivos orales y embarazo pueden predisponer a la candidosis vaginal. Esta entidad se caracteriza por la presencia de secreción espesa amarilla, lechosa y placas de pseudomembranas de color blanco que se observan en la mucosa vaginal. Las lesiones varían desde ligera reacción eccematoide con eritema

mínimo a un proceso patológico grave con pústulas, excoriaciones y úlceras. Toda esta área está muy inflamada y por lo regular, el prurito es muy intenso.

C. albicans es responsable de la mayor parte de los casos de vaginitis, sin descartar que en esta enfermedad los agentes causales también pueden ser T. glabrata, C. tropicales, C. stellatoidea y otras especies.^(1, 18)

-Balanitis. Es una entidad clínica propia del sexo masculino poco común, donde generalmente hay antecedentes de candidosis vaginal en la pareja. Se presenta en glande y surco balano prepucial dando lesiones eritematosas con leucoplasias, micropústulas, erosiones y fisuras. Sus síntomas son prurito y ardor intenso. En algunos individuos la infección se extiende al escroto, muslos y toda el área inguinal. En los casos graves se presentan lesiones a lo largo del epitelio de la uretra. C. albicans es el agente más común.

-Perianal. La infección perianal es común en los lactantes con muguet bucal. Puede manifestarse con enfermedad clínica del intestino o sin ella. Las lesiones son placas de color rojo opaco que coalescen y se extienden, con un borde irregular. Se forman vesículas que después se rompen para dejar un borde activo. El prurito es mínimo y en los lactantes sanos el trastorno se resuelve en forma rápida después del tratamiento. Esta forma clínica es frecuente en homosexuales VIH positivos o con SIDA.

Asociándose a una candidosis intestinal previa.^(1,9)

c) - Cutánea:

-Candidosis intertriginosa. Se presenta en pliegues de la piel carente de vello de manera directa o como colonización secundaria de lesiones preexistentes en cualquier parte del cuerpo debido a humedad constante. La forma más común es en axilas, ingle, pliegues submamaros, pliegues interglúteos y zonas interdigitales de pies y manos. Las lesiones tienen aspecto de "piel escaldada", con base eritematosa y borde festonado. La lesión en grandes pliegues está rodeada de erupciones "satélites", las que se desarrollan en forma de vesículas discretas, pústulas o ampollas que se rompen y dejan una superficie desnuda, con bordes erosionados y rasgados.

Este tipo de candidosis está relacionada con trastornos metabólicos como diabetes y embarazo. Sin embargo, la ocupación del paciente tiene que ver en la de las manos. La candidosis interdigital de pies es debido a humedad constante, se caracteriza por oclusión y maceración de la piel cubierta; por ejemplo el uso de botas y por la frecuente y continua inmersión en el agua. ⁽¹⁾

La colonización de la piel en estados oclusivos sin invasión de la epidermis, produce dermatitis por contacto del tipo irritante primario.

-Onicomicosis:

Son lesiones causadas por Candida sp. en las uñas de las manos (85%) y las de los pies (15%), en personas que mantienen las uñas mucho tiempo en la humedad o que están inmunodeprimidos. La uña es atacada por el borde proximal o lateral; desarrollándose al mismo tiempo una zona eritematosa alrededor de la uña (paroniquia 70%). La uña pierde su brillo y aparecen algunas estrias. En menor proporción (30%), aparece la lisis subungueal (onicólisis) provocando desprendimiento de las uñas. Lesiones similares se pueden producir por especies de Geotrichum sp. y Trichosporum sp.^(1, 9)

d) Profunda:

La infección severa por Candida sp. en cavidad oral, piel y genitales en pacientes con cánceres, leucemias, infecciones crónicas como la tuberculosis, septicemias y cualquier otra inmunodeficiencia, puede conducir a candidosis diseminada causando daño a nivel pulmonar, vías urinarias, corazón y SNC.⁽¹⁹⁾

La posibilidad de adquirir endocarditis por Candida es en tres grupos de pacientes susceptibles.

El primero incluye a aquellos con enfermedad preexistente, que han sido multitratados y dan oportunidad para que la flora normal de la piel, entre al torrente sanguíneo por la introducción de catéteres que predisponen a candidemia y después

a la colonización en las válvulas cardiacas. El segundo incluye a los drogadictos al ser multiinfectados con agujas contaminadas y sin ningún aseo de la piel. El tercero pertenece a aquellos infectados por cirugía del corazón.⁽¹⁾

CRIPTOCOCOSIS.

La criptococosis es una enfermedad cosmopolita, que para manifestarse requiere de factores predisponentes como son la diabetes, desnutrición, SIDA, linfomas, sarcomas, enfermedad de Hodgkin, entre otros. Es causada por Cryptococcus neofomans, el que penetra por vía respiratoria, teniendo predilección por el sistema nervioso central (SNC). (1)

En pacientes normales, la infección que sigue a la inhalación del microorganismo se resuelve en forma rápida con síntomas mínimos.

C. neofomans se ha aislado en grandes cantidades del excremento de pichón, en este ambiente con frecuencia se encuentra compartiendo hábitat alcalino, (rico en nitrógeno y sales), con Geotrichum candidum así como con especies de Candida sp. y Rhodotorula sp.

Este microorganismo no tiene la capacidad de infectar al pichón, sólo sobrevive en el excremento sin llegar a desarrollarse en ausencia de luz solar. Sin embargo, si se mantiene en un lugar húmedo adquieren una cápsula de resistencia y se convierte en vilureto.

No existe diferencia importante en la frecuencia de la infección, que pueda relacionarse con raza u ocupación.

Las personas dedicadas a la crianza de palomas tienen producción de anticuerpos más alto que lo normal, pero no presentan índice de infección.⁽¹⁾

Aspectos clínicos:

Pulmonar: generalmente cursa con tos, fiebre ligera y pérdida de peso, esputo mucoide y rara vez con hemoptisis. Las lesiones se pueden desarrollar en cualquier parte del pulmón. Se confunden con otros procesos infecciosos. Lo más desconcertante y agresivo es su metástasis silenciosa hacia el (SNC).

SNC: Es la más frecuente, el único síntoma en casi todos los pacientes es el dolor de cabeza y conforme avanza se manifiesta en signos residuales de meningitis: rigidez de nuca, hipersensibilidad en cuello y signos de Kerning y Brudzinski positivos. Su diagnóstico es micológico y/o inmunológico con apoyo de la tomografía computarizada.

Cutánea: Suelen ser manifestaciones secundarias de enfermedad diseminada. Las lesiones en la piel se presentan en forma de pápulas, pústulas acneiformes, o abscesos que con el tiempo se ulceran y se confunden con otras dermatosis de etiología diferente.

Osea. Como en otras enfermedades causadas por hongos, los criptococos tienen predilección por las prominencias óseas, de

huesos craneales y vértebras. Por lo regular las articulaciones no son afectadas, salvo por extensión directa. Las lesiones son múltiples, discretas, ampliamente diseminadas, destructivas y crónicas. Para el diagnóstico, el aspecto relativamente estacionario de la lesión y la falta de proliferación en el periostio sugiere más bien criptococosis que otras micosis.

Visceral: Se producen lesiones granulomatosas y gelatinosas que semejan sintomática e histológicamente a las neoplasias malignas. En ocasiones sólo se presenta en un solo órgano sin embargo lo general es que afecte a varios.

En la etapa tardía de la enfermedad los blastoconidios son diseminados por vía hematógena y los microorganismos se observan en las asas glomerulares de los riñones.

En algunas ocasiones se ha observado granuloma en expansión de la próstata, que a veces es causa de prostatitis sintomática.^(1,9)

OTRAS MICOSIS POR AGENTES LEVADURIFORMES

Otros hongos levaduriformes que colonizan en enfermedades debilitantes son Torulopsis, Rhodotorula , Hanseniospora y Saccharomyces.⁽²⁰⁾

R. rubra y S. cerevisiae son las más importantes y menos frecuente H. valbyensis.

Se encuentran presentes como flora normal en piel, pulmones, orina y heces y en algunos individuos en garganta.

La principal fuente de contaminación es por catéteres y soluciones intravenosas contaminadas llegando a causar endocarditis y septicemia en pacientes muy debilitados, Pore y Chen⁽¹⁾ reportaron un caso de meningitis causada por R. rubra en tanto que S. cerevisiae causa enfermedad pulmonar sobre todo en personas que laboran en la industria cervecera.⁽⁹⁾

Las enfermedades causadas por Torulopsis sp. pueden ser generalizadas, también afectan tejidos cutáneos y mucocutáneos, se puede encontrar como flora normal en boca (2 a 6 %) de personas sanas.⁽²¹⁾

También se encuentra entre 9 a 30 % en exámenes de secreciones vaginales de mujeres sanas.⁽¹⁾

DIAGNOSTICO MICOLOGICO.

1.- Se fundamenta en la búsqueda directa del hongo en muestras biológicas, así como su aislamiento en medios de cultivo e identificación exacta de género y especie por diversas pruebas biológicas.

Muestras biológicas:

Macerados de uñas y piel, exudados tisulares (vaginal, uretral) secreciones purulentas, esputo, orina, heces, sangre, líquido pleural, líquido cefalorraquídeo, principalmente.

a) Piel, uñas, heces, sangre, exudado vaginal.

Cualquiera de las muestras antes mencionadas son tratados con KOH al 10%. La presencia de blastoconidios en abundancia o blastoconidios más pseudohifas (Candida sp), nos indica infección por hongos levaduriformes. (22, 23, 24)

b) Orina, LCR, líquido pleural:

Este se realiza directamente del sedimento de estos líquidos, después de ser centrifugados durante 5 min. a 2500 rpm. Se buscan blastoconidios y/o pseudomicelio; o blastoconidios encapsuladas (25)

c) Tincion negativa:

La tinción con tinta china de LCR y esputo es específica para detectar la levadura encapsulada C. neoformans. Una variante de ésta es la tinción previa de la muestra con fucsina básica, para que el centro de el blastoconidio quede en color rojo y la cápsula incolora (tinción para resaltar la cápsula). Sin embargo tiene una sensibilidad menor o igual al 50%. Su limitante es no detectar Cryptococcus no capsulado sobre todo en muestras de LCR de pacientes con SIDA, además de que no diferencia entre especies de este género. ^(9, 25, 26)

2.- Medios de cultivo:

Los medios que se utilizan para el primoaislamiento son el agar dextrosa de Sabouraud y agar de cerebro corazón, a los que se les adiciona antibióticos para reducir el crecimiento de bacterias. Cloramfenicol (16 µg/ml), con gentamicina (5µg/ml), o sólo gentamicina (50 µg/ml). Paralelamente las muestras son inoculadas en los medios selectivos de Biggy- Nickerson para Candida sp. y agar alpiste negro para Cryptococcus sp. Excepcionalmente se usa el agar Micosel. los medios ya sembrados se incuban a temperatura ambiente o a 37 °C de 3 a 4 días. ^{(25, 26, 27,}

28)

-Examen en fresco de colonias levaduriformes:

La observación de una pequeña muestra de colonias con

aspecto levaduriformes suspendidas en solución salina, o en azul de algodón de lactofenol proveniente de cultivo primario nos asegura su pureza, de acuerdo a la homogeneidad de sus características micromorfológicas.

3.-Pruebas fisiológicas confirmatorias de especie:

a) Formación de tubo germinativo.

Esta prueba es llevada a cabo con un pequeño inóculo de una colonia pura de Candida sp. en 0.5 ml. de suero humano incubando la suspensión a 35°C durante 2.5 hrs.

Los tubos germinativos son extensiones parecidas a hifas, que crecen a partir de blastoconidios. Es específico para C. albicans.

b) Formación de clamidoconidios en harina de maíz + Tween 80 (1%).

Los clamidoconidios son formas de reproducción asexual y de resistencia, inducidas en medios pobres como la harina de maíz más un agente tensoactivo como el tween 80 (1%), para diferenciar a C. albicans de otras especies. Es necesario saber que todas las especies de Candida presentan en este medio blastoconidios + pseudomicelio pero sólo C. albicans forma además clamidoconidios.

Un pequeño inóculo de una colonia pura de Candida sp. se siembra por estría en zig - zag sobre el medio haciendo al final una incisión lineal sobre la estría. Esta prueba se interpreta después de 7 días revisando la caja de Petri directamente en objetivo de 10 y 40X. (9, 25, 27)

c) Formación de ascosporas.

La formación de ascosporas no es frecuentemente utilizada porque las levaduras se pueden identificar por su morfología y pruebas bioquímicas.

Esta prueba es más útil para identificar ascosporas de Saccharomyces sp. y Hanseniaspora valbyensis. (5, 27)

4.- Pruebas Bioquímicas.

a) Prueba de ureasa.

La prueba rápida de ureasa es un excelente método para identificar colonias de C. neoformans y para distinguir entre Geotrichum candidum y Trichosporum cutaneum. La interpretación de la prueba es ver si la urea ha sido hidrolizado, por un cambio en el color del indicador después de 4 hr. de incubación a 30°C.

(7, 9, 27)

b) Reducción de nitratos.

El agente reductor de nitrato es incubado con una colonia de la levadura en estudio y tratada con N-naftiletildiamina y ácido sulfanílico. Una reacción positiva confirma la presencia de la enzima nitrato reductasa, C. neoformans no es capaz de utilizar una fuente de nitrato inorgánico y ésta da una reacción negativa.^(6, 27)

c) Prueba de fenol oxidasa.

La prueba de fenol oxidasa es otro excelente método para identificar C. neoformans (única especie que produce esta enzima). Se basa en la capacidad de la enzima para reaccionar con dehidroxifenilalanina (L-DOPA) o ácido cinámico, que en presencia de citrato férrico, produce melanina.

Una suspensión de C. neoformans se aplica sobre discos de papel impregnado con L-DOPA, citrato férrico o ácido cinámico, posteriormente aparece un pigmento negro. La L-DOPA puede estar incorporada en tubos con agar inclinado (C/N-screen agar), la producción de pigmento en este medio requiere de 1 a 2 días.⁽²⁹⁾

d) Asimilación de trialosa.

Una prueba rápida es la utilización de trialosa por T. glabrata. Se inoculan las levaduras en un medio líquido que

contiene trealosa y un indicador de pH, se incuba durante 1 hr.

La utilización de la trealosa se indica por un cambio de color en el medio.^(6, 17)

e) Utilización de carbohidratos.

El número y tipo de carbohidratos utilizados por una levadura como fuente de carbono es básico para su identificación. Cada especie demuestra una habilidad única para utilizar cierto carbohidrato como sustrato.^(29, 30, 31, 32, 33)

Tanto el método convencional como el comercial, detectan un crecimiento visible de las levaduras o por el vire del indicador de pH.

En el primero se siembran de forma masiva las levaduras en una placa de agar, posteriormente se agregan discos impregnados con el carbohidrato correspondiente en la superficie del medio.⁽²⁹⁾

En el segundo se incorpora un solo carbohidrato en un medio basal o líquido, seguido por la inoculación en cada pocillo por una asada de levaduras en cultivo puro de reciente aislamiento (auxonograma).^(30, 34)

Los tres principales equipos de prueba para la identificación de levaduras son el API Yeast 20-C, el Uni-Yeast-Tek y el Microscan.

El API Yeast 20-C contiene 19 sustratos deshidratados en micropocillos. por este método la producción de turbidez requiere de dos a tres días de incubación.

El Uni-Yeast-Tek contiene la prueba de reducción de nitratos, producción de ureasa, morfología en harina de maíz , utilización de carbohidratos, formación de tubo germinativo y producción de fenol oxidasa. Este equipo requiere de un periodo de incubación aproximado de 7 días con una base de datos por computadora y es adecuado para las levaduras de más frecuente interés médico. El método Microscan, recientemente introducido se interpreta a las tres horas. (25, 35, 36, 37)

Los sustratos utilizados en el API-yeast-20 son los 19 siguientes:

Hexosas: glucosa, galactosa.

Disacáridos: Sacarosa, maltosa, celobiosa, trealosa,
lactosa.

Trisacáridos: rafinosa, melitosa.

Pentosas: xilosa, L-arabinosa.

Alcoholes: ribitol (adonitol), inositol, glicerol, xilitol,
sorbitol

Acidos orgánicos: 2-cetogluconato.

Glucidos: metil-D-glucosida, N-acetil-D-glucosamina.⁽⁵⁾

PRUEBAS INMUNOMICOLÓGICAS.

Los métodos más confiables son las que detectan antígenos fúngicos circulantes. El antígeno criptocócico (CMX) se detecta en suero y líquido cefalorraquídeo mediante la aglutinación en partículas de látex recubiertas con anticuerpo monoclonal anti-Glucorono-xilomananas (anti-GXM).

Aunque la prueba es de alta especificidad, ocasionalmente dan resultados falsos positivos y falsos negativos, algunas veces títulos bajos y reacciones cruzadas con antígenos de otros organismos.

Los resultados falsos positivos y falsos negativos se atribuyen a factores de interferencia como son complejos inmunes, factor reumatoide y otros componentes de suero.

El pretratamiento de la muestra con pronasa elimina estos factores.⁽²⁷⁾

Existen reportados estudios de laboratorio más sofisticados como estudios cromatográficos, electroforéticos y colorimétricos.^(33, 38, 39, 40, 41)

METODOLOGIA.

UNIVERSO.

Se estudiarán 150 pacientes con micosis por oportunistas tanto del sexo femenino como del sexo masculino, sin límite de edad que acudan al Hospital Juárez de México. S.S.

Criterios de inclusión.

- Pacientes de cualquier edad, sexo, ocupación y procedencia que clínicamente manifiestan síntomas de micosis por oportunistas.
- Pacientes que presenten examen directo (con KOH al 20%) ó tinción negativa positiva, así como el cultivo micológico positivos para hongos levaduriformes.
- Pacientes que no estén recibiendo tratamiento con antimicóticos sistémicos ó locales.

Criterios de exclusión

- Pacientes con examen directo con KOH al 10% dudoso.
- Examen directo con KOH al 10% positivo y cultivos negativos.

Criterios de eliminación.

-En el tiempo que se realice el estudio se eliminarán a pacientes cuyos cultivos de muestras se contaminen y no puedan ser recuperadas.

Procedimiento.

- a) Se canalizarán pacientes de consulta interna y externa, provenientes de los servicios de dermatología, infectología, endocrinología, neumología y medicina interna.
- b) Se procederá a realizar una inspección objetiva topográfica de las lesiones.

ESTUDIOS MICOLOGICOS.

1.- Toma de muestra:

Para estudios específicos (LCR, líquido de ascitis, aspirado bronquial) la muestra será tomada por el equipo de especialistas y posteriormente canalizado al laboratorio.

a) Examen directo con KOH al 20%.

La muestra problema es tratada con dos gotas de KOH al 20%, y calentar ligeramente para clarificarla. Se observa a 10 y 20X.

b) Tinción negativa.

Las muestras líquidas como el LCR se centrifugan 20' a 2000 rpm. Al sedimento se realiza ED con KOH al 20% y tinción con fucsina y tinta china, se observa al microscopio a 100X.

c) Tinción de Gram:

Fijar un frotis con calor, cubrir la preparación con colorante cristal violeta por 1', lavar con agua, cubrir la preparación con lugol por 1', decolorar con alcohol/acetona, lavar con agua de la llave, contrastar con safranina por 1', lavar con agua de la llave y dejar secar. Observar al microscopio con objetivo de inmersión, esto se hace para comprobar la morfología y pureza de la colonia.

2.- Cultivos:

Las muestras se sembraron por el método de agotamiento de colonias en cajas Petri que contenían los medios de Biggy-Nickerson, agar de Sabouraud, agar cerebro corazón y agar alpiste negro. Se incubaron a temperatura ambiente durante 48-72 hs.

Examen macroscópico de las colonias:

Este se realizó una vez que se logró el crecimiento del hongo en cuestión (aproximadamente 48 hs.); se tomaron en cuenta las siguientes características: En el anverso aspecto de las colonias y el reverso la producción de pigmentos.

Examen microscópico de las colonias:

Para asegurar la homogeneidad micromorfológica de la cepa en estudio, se realizaron exámenes directos con KOH al 10% y tinción de Gram.

3.- Pruebas específicas.

Fisiológicas:

Formación de tubo germinativo: Una asada de una colonia de Candida sp se inoculó en 1 ml de suero humano, se incubó a 37°C por 2.5 hrs. Se observó al microscopio mediante examen directo a 40X.

Inducción de formación de clamidiconidios: se sembró por estria una colonia de Candida sp. en una caja Petri con agar harina de maíz + Tween 80 al 1%, se incubó, 1 semana a temperatura ambiente. Posteriormente se observó directamente al microscopio a 40X

Bioquímicas:

Se realizaron con el equipo comercial API yeast 20C (METS)

RESULTADOS

Se estudiaron 150 pacientes con micosis por oportunistas. 56 (37 %) del sexo femenino y 87 (58 %) del sexo masculino. Con edades comprendidas entre 1 y 92 años con una media de 40.28 así como a 7 recién nacidos.

De éste número de pacientes de diagnosticaron previamente la siguiente entidades asociadas:

PATOLOGIA	No de casos	%
Diabetes mellitus no insulino dependiente	48	35
SIDA	28	18
Neumonía	13	8
Tb	18	11
Infecciones de vías urinarias	19	12
Otros padecimientos	20	13
Tiñas	4	3

A continuación se enlistan el número de pacientes, diagnostico, tipo de muestra, estudios micológicos y estudio bioquímico realizados.

No de Paciente	Edad	Sexo	DX	Muestra	Edi	Cult.	TUB	CM+TB0 y formación de tubo gramativo	Fba. Bacterias
1	66	M	Cuad. de la ingle	Inglie	+	+	-	+++	C. albicans
2	22	F	DMNID	Cav. oral	+	+	-	-	C. tropicalis
3	35	M	HIV	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
4	35	M	Cuad. de pies	Exomas	+	+	-	+++	C. albicans
5	33	M	Neumonia	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
6	43	M	HIV	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
7	27	F	IUV	ca. oral	+	+	-	+++	C. albicans
8	60	F	DMNID	Estado V	+	+	-	-	T. albana
9	43	F	DMNID	Estado V	+	+	-	+++	C. albicans
10	58	F	Tb	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
11	27	M	HIV	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
12	52	F	DMNID	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
13	19	F	DMNID	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
14	58	M	Imunodeficiencia	Cav. oral	+	+	-	-	C. tropicalis
15	58	M	Inf. vía urin.	Oron	+	+	-	-	C. tropicalis
16	38	F	DMNID	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
17	57	M	Tb.	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
18	58	M	Tb	Secreción	+	+	-	+++	C. albicans
19	75	M	Neumonia	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
20	52	F	DMNID	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
21	31	F	DMNID	Es. Veg.	+	+	-	+++	C. albicans
22	31	F	DMNID	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
23	76	M	Neumonia	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
24	18	F	Inf. vía urin.	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
25	18	F	Inf. vía urin.	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
26	36	M	DMNID	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
27	85	F	Neumonia	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
28	13	M	Tb	Secreción	+	+	-	+++	C. albicans
29	31	M	DMNID	Cav. oral	+	+	-	-	C. lusitana
30	28	M	DMNID	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
31	14	F	DMNID	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
32	49	F	DMNID	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
33	31	M	IUV	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
34	40	F	DMNID	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
35	37	F	Vaginosis	Es. Veg.	+	+	-	+++	C. albicans
36	20	F	Tb.	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
37	18	F	Neumonia	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
38	18	F	Tb	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
39	31	M	DMNID	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
40	54	F	Tb.	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
41	23	F	Vaginosis	Es. Veg.	+	+	-	+++	C. albicans
42	59	F	DMNID	Es. Veg.	+	+	-	+++	C. albicans
43	28	M	DMNID	Secreción	+	+	-	+++	C. albicans
44	53	M	DMNID	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
45	71	M	Inf. vía urin.	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
46	18	F	Tb.	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
47	31	M	DMNID	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
48	31	M	HIV	Oron	+	+	-	-	C. lusitana
49	26	M	IUV	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
50	56	F	DMNID	Es. Veg.	+	+	-	+++	C. albicans
51	25	M	HIV	Exomas	+	+	-	+++	C. albicans
52	68	F	DMNID	Es. Veg.	+	+	-	+++	C. albicans
53	50	M	Tb.	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
54	25	M	DMNID	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
55	23	M	HIV	LCR	+	+	+	-	C. neoformans
56	63	F	Neumonia	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
57	88	M	Inf. vía urin.	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
58	50	M	HIV	LCR	+	+	+	-	C. neoformans
59	40	M	DMNID	Secreción	+	+	-	+++	C. albicans
60	40	M	DMNID	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
61	27	M	Inf. vía urin.	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
62	60	F	Tb.	Esputo	+	+	-	+++	C. albicans
63	49	F	DMNID	Oron	+	+	-	-	T. albana
64	33	M	DMNID	Oron	+	+	-	+++	C. albicans
65	92	F	Imunodeficiencia	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans

CLAVES DMID = DIABETES MELLITUS NO INSULINO DEPENDIENTE, Dx = DIAGNOSTICO
 TB = TUBERCULOSIS, ED = EXAMEN DIRECTO, LCR = LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO

Tabla I a

No de Paciente	Edad	Sexo	DX	Muestra	ED	Con.	TUH	CMAs (H) y formaciones de tubo germinal	Pla. Histoplasma
66	85	M	Inf. vía urin.	orin	+	+	-	++	C. albicans
67	33	M		espec.	+	+	-	++	C. albicans
68	56	F	HIV	Cav. oral	+	+	-	++	C. albicans
69	30	M	HIV	LCR	+	+	-	-	C. neoformans
70	84	F	Immunosupresión	Cav. oral	+	+	-	++	C. albicans
71	29	M	Ea SNC	LCR	+	+	-	-	C. neoformans
72	71	M	Tb.	Espect.	+	+	-	-	C. trypozoides
73	20	M	HIV	LCR	+	+	-	-	C. neoformans
74	50	M	Neumonia	Espect.	+	+	-	++	C. albicans
75	23	M	Ea SNC	LCR	+	+	-	-	C. neoformans
76	69	M	Tb.	Espect.	+	+	-	++	C. albicans
77	85	M	Immunosupresión	Cav. oral	+	+	-	++	C. albicans
78	23	M	HIV	orin	+	+	-	++	C. albicans
79	37	M	Tubo	Esquemas	+	+	-	++	C. albicans
80	33	M	DMNID	Espect.	+	+	-	++	C. albicans
81	54	M	Tb.	espect.	+	+	-	++	C. albicans
82	67	F	Neumonia	Espect.	+	+	-	++	C. albicans
83	54	M	HIV	LCR	+	+	-	-	C. neoformans
84	37	M	DMNID	Cav. oral	+	+	-	++	C. albicans
85	27	M	HIV	Espect.	+	+	-	-	H. valvulata
86	70	M	DMNID	Cámbula	+	+	-	++	C. albicans
87	28	M	HIV	Cav. oral	+	+	-	++	C. albicans
88	62	M	DMNID	Cav. oral	+	+	-	++	C. albicans
89	32	M	HIV	Cav. oral	+	+	-	++	C. albicans
90	64	F	Tb.	Espect.	+	+	-	++	C. albicans
91	38	M	DMNID	Espect.	+	+	-	++	C. albicans
92	80	F	Post. op.	Orin	+	+	-	++	C. albicans
93	31	F	DMNID	Orin	+	+	-	++	C. albicans
94	51	F	DMNID	Cav. oral	+	+	-	++	C. albicans
95	70	M	Tb.	Espect.	+	+	-	++	C. albicans
96	78	F	Post. op.	Cav. oral	+	+	-	-	T. plebeia
97	48	M	Neumonia	Espect.	+	+	-	++	C. albicans
98	53	F	DMNID	Orin	+	+	-	++	C. albicans
99	19	F	Inf. vía urin.	Orin	+	+	-	++	C. albicans
100	63	F	DMNID	Cav. oral	+	+	-	++	C. albicans
101	60	M	DMNID	Cav. oral	+	+	-	++	C. albicans
102	52	F	DMNID	Orin	+	+	-	-	T. plebeia
103	85	M	Sepsis	Sangre	+	+	-	++	C. albicans
104	60	M	DMNID	Suc. bron.	+	+	-	++	C. albicans
105	62	M	Neumonia	Espect.	+	+	-	++	C. albicans
106	40	F	Post. op.	Sangre	+	+	-	++	C. albicans
107	37	M	HIV	Cav. oral	+	+	-	++	C. albicans
108	58	F	DMNID	Orin	+	+	-	-	T. plebeia
109	81	M	Neumonia	Espect.	+	+	-	++	C. albicans
110	54	F	Tb.	Espect.	+	+	-	++	C. albicans
111	52	M	Inf. vía urin.	Orin	+	+	-	-	C. trypozoides
112	30	F	Ea SNC	LCR	+	+	-	-	C. neoformans
113	45	M	DMNID	Succion	+	+	-	-	C. trypozoides
114	48	F	DMNID	at. vag.	+	+	-	-	C. trypozoides
115	46	M	Ea SNC	LCR	+	+	-	-	C. neoformans
116	23	M	HIV	LCR	+	+	-	-	C. neoformans
117	26	M	HIV	LCR	+	+	-	-	C. neoformans
118	35	F	DMNID	Orin	+	+	-	-	C. parvum
119	55	F	Inf. vía urin.	Orin	+	+	-	++	C. albicans
120	3	M	Inf. vía urin.	Orin	+	+	-	++	C. albicans
121	30	M	Inf. vía urin.	Orin	+	+	-	++	C. albicans
122	28	M	HIV	Cav. oral	+	+	-	++	C. albicans
123	65	F	Inf. vía urin.	Orin	+	+	-	++	C. albicans
124	31	M	HIV	Cav. oral	+	+	-	++	C. albicans
125	49	F	DMNID	Secreción	+	+	-	++	C. albicans
126	57	M	Tb.	Orin	+	+	-	++	C. albicans
127	21	M	Inf. vía urin.	Orin	+	+	-	-	T. plebeia
128	41	M	Cand. de pie	Esquemas	+	+	-	++	C. albicans
129	69	M	Osteomieloma	Esquemas	+	+	-	++	C. albicans
130	59	F	DMNID	Orin	+	+	-	-	C. trypozoides

CLAVES: DMNID= DIABETES MELLITUS NO INSULINO DEPENDIENTE, Dx= DIAGNOSTICO
 LCR= LIQUIDO CEFALORRAQUEIDO, ED= EXAMEN DIRECTO, Tb= TUBERCULOSIS.

Tabla I b

No de paciente	Edad	Sexo	Dr	Muestra	ED	Cvb.	T CH	CM+ TIO y formación de tubo germinal.	Pon. Biopsia
131	30	M	HIV	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
132	35	F	Tb	Expet.	+	+	-	-/-	C. tropicalis
133	33	F	Inf. vías urin.	Orina	+	+	-	-/-	T. rubra
134	31	M	Inf. vías urin.	Orina	+	+	-	+++	C. albicans
135	31	M	Neumonia	Expet.	+	+	-	+++	C. albicans
136	RN	M	Cand. del pabel	Sec. gen	+	+	-	+++	C. albicans
137	RN	M	Cand. del pabel	Sec. gen.	+	+	-	+++	C. albicans
138	26	F	HIV	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
139	RN	M	Cand. del pabel	Sec. gen	+	+	-	+++	C. albicans
140	25	M	HIV	Escaras	+	+	-	+++	C. albicans
141	40	F	Inf. vías urin.	Orina	+	+	-	+++	C. albicans
142	45	M	DMNID	Orina	+	+	-	+++	C. albicans
143	60	M	DMNID	Orina	+	+	-	+++	C. albicans
144	50	F	DMNID	Orina	+	+	-	+++	C. albicans
145	01	F	Inf. vías urin.	Orina	+	+	-	-/-	T. rubra
146	45	M	Imunodeficiencia	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
147	36	M	Inf. vías urin.	Orina	+	+	-	+++	C. albicans
148	01	M	Imunodeficiencia	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
149	33	M	HIV	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans
150	06	F	Imunodeficiencia	Cav. oral	+	+	-	+++	C. albicans

CLAVES: DMNID= DIABETES MELLITUS NO INSULINO DEPENDIENTE, ED= EXAMEN DIRECTO,
Dr= DIAGNOSTICO, Tb= TUBERCULOSIS

Tabla I c

ESPECIES DE HONGOS LEVADURIFORMES AISLADOS DE PACIENTES CON:

DIAGNOSTICO	A	B	C	D	E	F	G	H
CANDIDOSIS PIES/INGLE (4)	4	---	---	---	---	---	---	---
DMNID (48)	37	---	4	4	2	---	---	1
SIDA (28)	19	7	---	---	1	1	---	---
NEUMONIA (13)	13	---	---	---	---	---	---	---
TUBERCULOSIS (18)	16	---	---	1	---	---	1	---
INF. VIAS URIN. (19)	14	---	3	2	---	---	---	---
OTROS PADECIM. (20)	14	4	1	1	---	---	---	---

A = C. albicans

B = C. neoformans

C = T. glabrata

D = C. tropicalis

E = C. lusitaniae

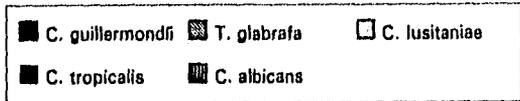
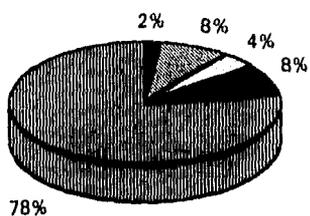
F = H. valbyensis

G = C. parapsilosis

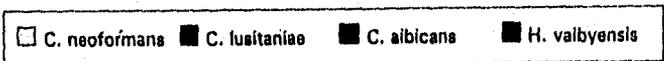
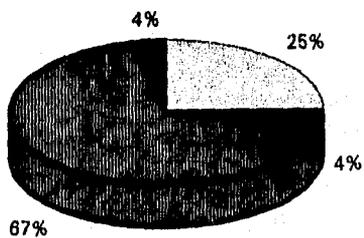
H = C. quillermondii

Tabla II

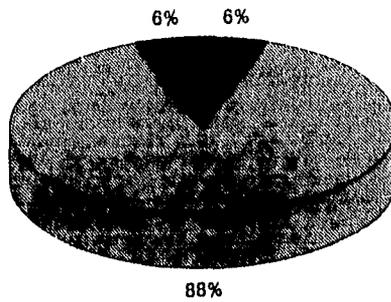
Gráfica I DMNID + CANDIDOSIS



Gráfica II SIDA + CANDIDOSIS + HANSENIOSPOROSIS + CRIPTOCOCOSIS

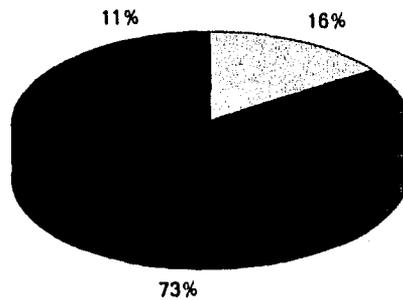


Gráfica III TUBERCULOSIS + CANDIDOSIS



■ *C. tropicalis* ■ *C. albicans* ■ *C. parapsilosis*

Gráfica IV INFECCIONES VIAS URINARIAS + CANDIDOSIS Y TORULOSIS



■ *T. glabrata* ■ *C. albicans* ■ *C. tropicalis*

ESPECIES DE GENEROS LEVADURIFORMES EN OTROS PADECIMIENTOS.

		<u>C. albicans</u>	<u>C. neoformans</u>	<u>T. glabrata</u>	<u>C. tropicalis</u>
Vaginitis	(2)	2	---	---	---
Septicemia	(1)	1	---	---	---
Inmunesupresión	(7)	6	---	---	1
En SNC	(4)	---	4	---	---
En post operados	(3)	2	---	1	---
Candidosis del pañal	(3)	3	---	---	---
Total	(20)				

Tabla III

CANDIDOSIS ASOCIADA A:

A

CANDIDOSIS PIES/UÑAS	2
DMNID	37
SIDA	19
NEUMONIA	11
Tb	16
Inf. vías urin.	14
OTRAS*	14
TOTAL	113

B

*OTRAS

VAGINITIS	2
SEPTICEMIA	1
INMUNOSUPRESION	6
POST OPERADOS	2
CANDIDOSIS DEL PAÑAL	3
TOTAL	14

Tablas V y VI

ESPECIES DE HONGOS LEVADURIFORMES AISLADOS
DE 150 CASOS

GENERO	ESPECIE	NUMERO	%
<u>Candida</u>	<u>albicans</u>	117	78.0
	<u>tropicalis</u>	8	5.3
	<u>guilliermondii</u>	1	0.7
	<u>parapsilosis</u>	1	0.7
	<u>lusitaniae</u>	3	2.0
<u>Torulopsis</u>	<u>glabrata</u>	8	5.3
<u>Cryptococcus</u>	<u>neoformans</u>	11	7.3
<u>Hanseniospora</u>	<u>valbyensis</u>	1	0.7
		-----	----
Total		150	100%

TABLA IV

PERFILES BIOQUIMICOS MAS FRECUENTES

PARA	PERFIL BIOQUIMICO	NUMERO
<u>C. albicans</u>	2 576 170	63
	2 776 170	16
	2 566 170	15
	6 172 170	3
	2 176 170	3
	6 100 100	2
	2 556 171	2
	6 176 170	2
	6 776 170	2
	2 575 170	1
	2 572 170	1
	6 576 170	1
	6 776 370	1
	6 516 170	1
	2 564 170	1
	2 562 170	1
	2 172 170	1
2 546 170	1	
<u>C. tropicalis</u>	2 556 071	5
	2 556 171	3
<u>C. guillermondii</u>	6 672 373	1
<u>C. parapsilosis</u>	2 756 171	1
<u>C. lusitaniae</u>	2 536 371	3
<u>T. glabrata</u>	2 000 040	8
<u>C. neoformans</u>	2 146 133	6
	2 557 373	3
	2 556 133	1
	2 547 372	1
<u>H. valbyensis</u>	2 000 200	1

Tabla VII

**POSITIVIDAD DE CARBOHIDRATOS EN LOS PERFILES BIOQUÍMICOS OBTENIDOS
PARA *C. albicans***

NO. DE P.B.	0	GLU	GLY	ZKG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	%
2 576 170	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	53.8
2 776 170	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	13.6
2 566 170	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	12.8
6 172 170	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	2.5
2 176 170	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	2.5
6 100 100	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	-	1.7
2 556 171	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	1.7
6 176 170	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	1.7
6 776 170	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	1.7
2 575 170	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0.85
2 572 170	-	+	+	-	+	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	-	-	0.85
6 576 170	-	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0.85
6 776 370	-	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	0.85
6 516 170	-	+	-	-	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	0.85
2 564 170	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0.85
2 562 170	-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	0.85
2 172 170	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	0.85
2 546 170	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	-	-	0.85

TABLA VIII a

PARA C. neoformans

NO. DE P.B.	0	GLU	GLY	ZKG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	%
2 146 133	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	54.54
2 557 373	-	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	+	+	27.27
2 556 133	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	+	9.09
2 547 372	-	+	-	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	9.09

PARA C. tropicalis

NO. DE P.B.	0	GLU	GLY	ZKG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	%
2 556 071	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	62.5
2 556 171	-	+	-	+	-	+	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	37.5

TABLAS VIII b y VIII c

PARA *T. glabrata*

NO. DE P.B.	0	GLU	GLY	ZKG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	%
2 000 040	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	100

PARA *C. guillermondii*

NO. DE P.B.	0	GLU	GLY	ZKG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	%	
6 672 373	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	100

PARA *C. parapsilosis*

NO. DE P.B.	0	GLU	GLY	ZKG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	%
2 756 171	-	+	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	-	100

PARA *C. britanica*

NO. DE P.B.	0	GLU	GLY	ZKG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	%
2 536 371	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	-	100

TABLAS VIII d, VIII e y VIII f

PARA *H. valbyensis*

NO. DE P.B.	0	GLU	GLY	ZKG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	%
2 000 2 00	-	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-	100

TABLAS VIII g y VIII h

DISCUSION

Se estudiaron las muestras biológicas (piel, uñas, mucosas, expectoración, orina, líquido cefalorraquídeo) de 150 pacientes con diagnóstico de micosis por oportunistas levaduriformes, internos ó externos de las consultas de Medicina Interna del Hospital Juárez de México S. S.

Todos los pacientes que se valoraron presentaban manifestaciones clínicas de infección micótica activa cuyos diagnósticos fueron confirmados mediante exámenes directos positivos.

En el caso de la candidosis se observó en las muestras de orina, expectoración y exudado vaginal, blastoconidios más pseudohifas (Tabla Ia, Ib, Ic.). Los casos de exámenes directos con acúmulos de blastoconidios fueron eliminados. mientras que en la onicomycosis se consideraron como forma parasitaria.

En la criptococosis siempre se observaron blastoconidios encapsulados. Sin embargo Torulopsis fue aislada de orina, de cavidad oral y otra de exudado vaginal. La hanseniosporosis se presentó en un paciente con SIDA en etapa IV, fue aislada de cuatro muestras repetidas de expectoración, en ambas micosis siempre los exámenes directos se presentaron con abundantes acúmulos de blastoconidios, en la torulopsis de formas redondas y en la hanseniosporosis de formas elípticas. Todos los aislamientos primarios fueron positivos en medios de Sabouraud

agar, donde hubo desarrollo de colonias blanquecinas de aspecto cremoso. Se confirmó la presencia del género Candida en el medio de Biggy, las colonias fueron de aspecto mucolde limitadas de color café claro a oscuro. (Tabla II, III, IV, V y VI)

El primoaislamiento de C. neoformans se realizó en el medio de alpiste negro, dando colonias de aspecto mucolde cremosas de color café oscuro.

De cada cultivo obtenido se practicó tinción de Gram donde observamos homogeneidad y semejanza micromorfológica. En el caso de los géneros Candida, Cryptococcus y Torulopsis los blastoconidios fueron siempre esféricos o semiredondos, mientras que para Hanseniospora fueron elípticos, y todos Gram positivos.

A las cepas de Candida se le realizó la formación de tubo germinativo e inducción de clamidioconidios, únicamente las de C. albicans dieron positivas estas pruebas. Aunque cabe mencionar que todas las de más cepas de Candida estudiadas, únicamente formaron pseudomicelio en el medio de harina de maíz + Tween 80. Para cada cultivo de Cryptococcus en el medio de alpiste negro, así como en el agar de Sabouraud, se reconfirmó la presencia de cápsula mediante la tinción con Fucsina/tinta china.

De las 150 cepas puras reaisladas se realizó el API yeast 20C donde se identificaron las siguientes especies 117: C. albicans con 3 perfiles bioquímicos de mayor frecuencia el

2 576 170, 2 776 170 y 2 566 170; 8 de C. tropicalis, 1 de C. parapsilosis, 3 de C. lusitaniae y 1 de C. guillermondii; 11 de C. neoformans. (Tabla VII)

En la tabla de resultados se han enlistado los carbohidratos utilizados y el número del perfil bioquímico obtenido, se observa que de los 19 carbohidratos que nos proporciona el equipo 12 fueron los más frecuentemente asimilados: glucosa, 2-cetogluconato, xilosa, adonitol (ribitol), xilitol, galactosa, sorbitol, metil-D-glucosido, N-acetil-D-glucosamina, maltosa, sacarosa, trealosa por 63 cepas de C. albicans (53%) (Tabla VIIIa)

16 cepas (14 %) asimilaron arabinosa, 15 cepas (13 %) no asimilaron el adonitol y ribitol; estos tres perfiles fueron los más frecuentes; el número restantes de cepas (20 %) varían en su asimilación. Lo que se observa claramente es que los carbohidratos que no asimila ninguna especie de C. albicans son el inositol que es un alcohol; la trealosa un disacárido; y la rafinosa que es un trisacárido. Por lo que estas cepas no cuentan con las enzimas para poder degradar a estos sustratos como fuentes de carbono.

Para el C. neoformans, su perfil bioquímico muestra que de los 19 carbohidratos, nunca utiliza el glicerol ni el xilitol como fuente de carbono, sin embargo a diferencia de C. albicans si asimila la rafinosa. (Tabla VIIIb)

En la especie C. tropicalis las 8 cepas obtenidas nunca utilizaron al glicerol, la arabinosa, el xilitol (ribitol), al inositol, la celobiosa, la lactosa, la melecitosa y la rafinosa. Es de manifiesto que en esta especie hay disminución de su capacidad asimilativa. (tabla VIIIc)

Las 8 cepas de T. glabrata no variaron entre sí de los carbohidratos utilizados y únicamente asimilaron glucosa y trealosa. Indicando con ello su incapacidad zimática, quedando separada claramente de las especies del género Candida que tiene capacidad zimática sobre exosas, disacáridos y pentosas. (tabla VIII d)

Para C. guillermondii, C. parapsilosis, C. lusitaniae y H. valbyensis únicamente se logró aislar una cepa por cada caso y no se pudo observar si hay o no variación en su perfil bioquímico (Tablas VIIIe, VIII f, VIII g y VIII h) *

Fueron un total de 5 especies diferentes de Candida que se aislaron y de estas la única que asimila inositol es C. parapsilosis.

Es muy importante destacar que el género Candida en general tiene capacidad por degradar glucosa, 2-Cetoglutamato, xilitol, NAG, maltosa y sacarosa.

La identificación de H. valbyensis se realizó por triplicado obteniendo el mismo perfil bioquímico , donde se observa claramente la ausencia de enzimas. Como se trata de una levadura

ascosporada, se indujo su forma de reproducción perfecta en el medio de agar para producción de ascosporas, durante 15 días comprobando la forma de ascas elípticas conteniendo 4 ascosporas₍₁₎.

La presencia de enzimas que degradan la glucosa, xilosa, sorbitol, NAG, maltosa y sacarosa es capacidad en los géneros que conforman la familia Cryptococcaceae, aunque usualmente el género Torulopsis tiene un perfil enzimático distinto.

Con respecto a la presencia de infección por oportunistas levaduriformes en otras patologías, se sigue manteniendo la asociación en DM-II, SIDA y tuberculosis. Además que C. albicans sigue ocupando el primer lugar en estas entidades.

CONCLUSIONES

-En nuestro estudio se demuestra que en infecciones micóticas por oportunistas activas siempre se encuentran las formas parasitarias. En la candidosis, blastoconidios y/o pseudomicelio, en criptococosis blastoconidios encapsulados, en torulopsis y hanseniosporosis acúmulos de blastoconidios.

-La observación macro y microscópica en el primoaislamiento de hongos levaduriformes en el medio de agar Sabouraud no es contundente para determinar género-especie. Sin embargo en los medios de Biggy-Nickerson y alpiste negro, aseguran el aislamiento de los géneros Candida y Cryptococcus respectivamente.

-La tipificación exacta de especies de los géneros Candida, Cryptococcus y Torulopsis por el método auxonográfico del API-yeast 20C se puede considerar definitivo, aunque se requiere de 72 hrs. para su correcta interpretación. Las pruebas fisiológicas de formación de tubo germinativo en suero e inducción de clamidioconidios en medios pobres siguen siendo específicos y útiles para identificar a C. albicans.

-La especie más frecuentemente aislada fue C. albicans (78%) de los que presentan 3 perfiles bioquímicos principales (2576170/2776170/2566170), en segundo lugar se identificó a C. neoformans (7.3%) con dos perfiles (2146133/2557373), y C. tropicalis (2556071/2556171) y T. glabrata (2000200) ambos con el 5.3%. Se tipificaron 3 cepas de C. lusitaniae (2536371), una de C. guilliermondii (6672373) y otra de C. parapsilosis (2756171). Se reporta el aislamiento por vez primera de H. valbyensis de una infección pulmonar fatal en un paciente con SIDA; identificada por triplicado con el perfil 2000200 y por la producción de ascosporas.

ANEXO I

Identificación bioquímica.

Esta tipificación se realiza con el equipo api yeast 20 (The analytical profile index). Este es un método definitivo de identificación del género y especie de levadura involucrada. Se realiza licuando el medio que se proporciona en el equipo. Se toma una muestra de un cultivo de 24h. sembrado en medio de Sabouraud agar, se van llenando los pozos, cada pozo contiene un carbohidrato en el cual se podrá observar el crecimiento mediante la turbidez que presente, esto se hace comparando con el control negativo, que es un pozo que no contiene fuente de carbono y el control positivo es el pozo que contiene glucosa. La lectura se realiza a las 24, 48 y 72 h. el perfil se construye de acuerdo al siguiente criterio.

Lista de sustratos y abreviaturas incluidos en el 20C.

pozo	Prueba de asimilacion	abreviatura
1	Control	0
2	Glucosa	GLU
3	Glicerol	GLY
4	2-ceto-D-gluconato	2KC
5	L-arabinosa	ARA
6	Xilosa	XYL
7	Adonitol (ribitol)	ADO
8	Xilitol	XLT
9	Galactosa	GAL
10	Inositol	INO
11	Sorbitol	SOR
12	Metil-D-glucósido	MDG
13	N-Acetil-D-glucosamina	NAG
14	Celobiosa	CEL
15	Lactosa	LAC
16	Maltosa	MAL
17	Sacarosa	SAC
18	Trealosa	TRE
19	Melesitosa	MLZ
20	Rafinosa	RAF

Los 19 sustratos y el control son divididos en seis grupos de tres:

Grupos:

1	2	3	4	5	6	7
0 control	2KG	ADO	INO	NAG	MAL	MLZ
GLU	ARA	XLT	SOR	CEL	SAC	RAF
GLY	XYL	GAL	MDG	LAC	TRE	

Sólo a los pocitos que presentan crecimiento (turbidez) a las 72 hrs. se le asigna valor numérico:

Uno para el primer sustrato de cada grupo.

Dos para el segundo sustrato de cada grupo.

cuatro para el tercer sustrato de cada grupo.

El resultado final del perfil bioquímico está formado por siete dígitos (7D). este número 7D se busca en el índice del perfil analítico proporcionado en el equipo. Identificando obteniendo así el género-especie involucrado.

ANEXO II

Material

Pipetas Pasteur estériles

Hisopos estériles

Pipeta calibrada de 1, 5, 10 cc.

Aplicadores de madera estériles

Tripie

Tubos de ensaye de 16 x 150

Mechero

Tela de alambre

Asa bacteriológica

Asa micológica

Vasos de precipitado de 250,, 500, 1000 ml. Bulbos de goma

Cajas Petri de vidrio

Cubreobjetos

Portaobjetos

Marcadores indelebles

Maskintape

Tapones de algodón

Equipo

Refrigerador

Autoclave

Microscopio óptico

Equipo de API yeast 20C

Incubadora a 37^o C.

Cámara húmeda.

Reactivos y colorantes:

Agua destilada

Hidróxido de Potasio (KOH) al 20 %

Cristal violeta

Lugol

Alcohol-acetona

Safranina

Suero (para formación de tubo germinativo).

Medios de cultivo

Sabouraud agar

Biggy-Nickerson agar

Corn Meal agar + Tween 80 al 1%

Medio de Zanahoria

Agar para la producción de ascosporas.

Alpiste negro agar

ANEXO III

npi 20C[®]
System

REFERENCE NUMBER	PATIENT	SEX	AGE	SOURCE/SITE
<input type="text"/>				
DATE	DEPT./SERVICE	PHYSICIAN		
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>		

	O	GLU	GLY	ZKG	ARA	XVL	ADD	XLT	GAL	IND	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	
24 H	<input type="checkbox"/>																				
48 H	<input type="checkbox"/>																				
72 H	<input type="checkbox"/>																				
Profile Number	<input type="checkbox"/>																				
ADDITIONAL INFORMATION											IDENTIFICATION										
<input type="text"/>											<input type="text"/>										
MICROSCOPIC MORPHOLOGY																					
<input type="text"/>																					

42 003
(2/90)

BIBLIOGRAFIA.

1. Rippon W. J.: Tratado de Micología médica. 3a. ed. ed. Interamericana -McGraw-Hill. México D. F. (1990).
2. Herrera T, Ulloa M.: El Reino de los Hongos. 2a ed. Ed Fondo de cultura económica. México D.F. (1990).
3. Rose H. A.: The Yeast, Volume II. Ed CRC Florida. USA. (1994).
4. Norman F.: Micología. 3a. ed. Ed Interamericana. México D. F. (1979).
5. Barnett; J.A.: A guide to identifying and clasifying yeast. Ed Cambridge University preess. Masch. USA.. (1993).
6. Arenas R.: Micología Médica Ilustrada. Interamericana-McGraw-Hill. México D. F. (1993).
7. Kreger-Van Rij.: The yeasts a taxonomic study. 2a. ed. Ed. Elsevier Science Publisher. B.V. Amsterdam. Inglad. (1984).
8. Kocková-Kratochvilová A.: Yeast and Yeast-like organisms. UCH Publishers Inc. New York. NY USA. (1990).

9. Bonifaz, A.: Micología Médica Básica. 1a. ed. Ed Méndez Cervantes. México, D.F. (1990).
10. Griffin D.: Fungal Physiology. Ed Wilwy-Liss. New York. USA. (1993).
11. Spencer; J. F. T.: Yeast Genetic, Fundamental and Applied Aspects. Ed. Springer-Verlag New York. USA. (1983).
12. Wilfred N; A.: Envelopes: Biochemistry, Biophysics, and Ultrastructure, Volume I. Ed. CRC Florida. USA. (1981).
13. Ruiz-Herrera J.: Structure, synthesis and Assenby. 1a ed. Ed CRC. New York. USA. (1991)
14. Alsina A; Mason M; Uphoff R; et al.: Catheter-associated C. utilis Fungemia in patient wit acquires inmunodeficiency syndrome: Species Verification with a molecular probe. J Clin Microbiol (1988). 4: 621-4.
15. Tylenda Ca; Larsen J; Yeh C; et al. (1989): High levels of oral yeasts in early HIV-1 infection. J Oral Pathol Med (1989) 9: 520-4.
16. Olsen I Stenderup A.: Clinical mycologic diagnosis of oral yeast infections. Acta Odontol Scand (1990) 1: 11-8.

17. Ruhnke M. Eigler A; Tennegen I; et al.: Emergence of fluconazole-Resistant Strains of Candida albicans in patients with Recurrent Oropharyngeal Candidosis and Human Immunodeficiency Virus Infection. J Clin Microbiol (1994) 1:2092-8.

18. Kaufman RH: Establishing a correct diagnosis of vulvovaginal infection. Am J Obstet Gynecol (1988) 4: 986-8.

19. Doi M; Homma Michio; Iwaguchi S; et al.: Strain Relatedness of Candida albicans Strain Isolate from Children With Leukemia and their Bedside Parents. J Clin Microbiol (1988) 1:2253-9.

☺

20. Radler F; Scmitt M; Meyer B; et al.: killer toxin of Hanseniaspora ovarum. Arch Microbiol (1990) 2:175-8.

21. Kairuz P; Zuber J; Jaunin P.: Rapid Detection and Identification of C. albicans and T. (candida) glabrata in clinical specimens by species specific nested PCR Amplification of a Cytochrome P-450 Lanosterol- α -Demethylase(L1A1) gene fragment. J Clin Microbiol (1994) 2: 1902-7.

22. D. Grigorio.: Medical Micology. 2a. ed. Editiones Roche, Switzerland. (1987).

23. E. S. Beneke.: Medical Micology Manual. Burges Publishing Company. Flod. USA. (1970).

24. Emmons WCh: Medical Micology. 1a. ed. Ed. Lea and Febiger. Flod. U S A. (1970).
25. Koneman WE. y Robert DG.: Micología práctica de laboratorio. Ed. Médica Panamericana. Buenos Aires, Argentina. (1987).
26. Denning Dw; Stevens DA; Hamilton JR.: Comparison of Guisotia abyssinica seed esxtract (birdseed) agar With conventional media for selective identification of C. neoformans in patiens with acquired inmunodeficiency syndrome. J Clin Microbiol ((1990) 11:2565-7.
27. Moelleriing; C. Robert.: Infections disease Clinics of North America. W. B. Saunders Co Inc. Flod. (1988) USA.
28. Yamane N; Saitoh Y.: Isolation and Detection of multiple Yeasts from a single clinical sample by use of Pagano-Levin agar medium. J Clin Microbio. (1985) 2:276-7
29. Sobczak H.: A simple disk-diffusion test for diferentiation of yeast species. J Med Microbiol. (1985) 1:216-9.
30. Sandven P.: Laboratory identification and sensivity testing of yeast isolates. Acta Odontol Scand. (1990). 1: 27-36.

31. Zaatari M; Pasarell L; MGinnisMR; et al.: Evaluation of the update Vitek yeast identification data base. J Clin Microbiol (1990). 9: 1938-41.

32. Kiehn TE; Edwards FF; Tom D; et al. (1985): Evaluation of the Quantum II yeast identification system. J Clin Microbiol. (1985). 216-9

33. Barchiesi F; Colombo AL; McDough D; et al.: Comparative Study of Broth Macrodilution and Microdilution Techniques for In Vitro Antifungal Suceptibility Testing of Yeast by using The National Committee for Clinical Laboratory Standards' Proposed Standard. J. Clin. Microbiol. (1994). 2494-2500.

34. Baker G. John; Talkin IF; Pincus DH; et. al.: Use of Rapid Auxonographic Procedures for Recognition of an Atypical Candida. J Clin Microbiol. (1981). 1:652-654.

35. Pfaller Ma; Preston T; Bale M; et al.: Comparasion of the Quantum II, API, yeast Ident, and AutoMicrobic systems for identification of clinical yeast isolates. J Clin Microbiol. (1988). 10:2054-8.

36. Russolo S; Sala A; Crufti D; et al.: Identification of yeast-like fungi: evaluation of commercial system. Quad Sclavo Diagn.(1984) 372-8.

69
ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

37. Morace G. Archibusacci C; Sestito M; et al.: Strain differentiation of pathogenic yeasts by the killer system. Mycopathology. (1984) 81-5.

38. Perry JL; Miler GR; Carr DL; et al.: Rapid, colorimetric identification of C. albicans. J Clin Microbiol. (1990) 3: 614-5.

39. Quadri SM; Flournoy DJ; Quadri SG; et al.: Rapid identification of yeasts by semiautomated and conventional methods. Med Microbiol Immunol. (1986) 307-16.

40. Larsson L; Person C; Weibe T; et al: Gas Chromatographic Determination of D-Arabinitol/L-Arabinitol Ratios in Urine: a Potencial Method for Diagnosis of Disseminated Candidiasis. J Clin Microbiol. (1994) 1855-9.

41. Monod M; Portchet S; Frenk F. et al.: The identification of pathogenic yeast strains by electrophoretic analysis of their chromosomes. J Clin Microbiol. (1990). 2:123-9.