



UNIVERSIDAD NACIONAL  
AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE QUÍMICA

**“IDENTIFICACIÓN DE LEVADURAS  
AISLADAS DE CERDOS CRIADOS EN  
GRANJAS COMERCIALES DE SONORA”**

**TESIS  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

PRESENTA:

**JUAN VOUTSSÁS LARA**



MÉXICO, D.F.

2008



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.

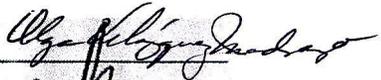
**JUARADO ASIGNADO:**

**PRESIDENTE:** Profesora: Olga del Carmen Velázquez Madrazo  
**VOCAL:** Profesor: Abel Gutiérrez Ramos  
**SECRETARIO:** Profesora: María del Pilar Granada Macías  
**1er. SUPLENTE:** Profesor: Misael González Ibarra  
**2º SUPLENTE:** Profesor: Eduardo Bonilla Espinosa

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:** Laboratorio de Medios de Cultivo (Anexo Lab. 1-A) y Anexo Lab. 1-B de la Facultad de Química, UNAM

**ASESOR DEL TEMA:**

M en E Olga del Carmen Velázquez Madrazo



**SUPERVISOR TÉCNICO:**

Dr. Enrique Corona Barrera



**SUSTENTANTE:**

Juan Voutssás Lara



*Este trabajo forma parte del proyecto “Epidemiological Investigation on Intestinal Spirochaetes and Other Porcine Enteropathogens in Mexico” dirigido por el Dr. Enrique Corona Barrera de la Universidad Autónoma de Yucatán (UADY) y financiado por Novartis Animal Health (Basel, Switzerland). Se agradece de manera especial el apoyo y financiamiento proporcionado para la realización de esta tesis.*

## **Agradecimientos:**

*A mis padres. Es gracias a su esfuerzo, su confianza, su apoyo y su amor que culmino esta meta en mi vida, meta entre muchas otras por alcanzar. Gracias por tantos sacrificios y tantas bendiciones que me han dado día a día. Mamá, solamente tú entiendes los sacrificios tan grandes que hacemos en este nuestro mundo que llamamos facultad, gracias por ser soporte en esta lucha tan larga y consuelo en tantas batallas que sentí perdidas. Papá, gracias por todo lo que me has enseñado, incluyendo la fortaleza que necesité día a día; es todo lo que hemos compartido lo que me permitió llegar aquí el día de hoy.*

*A mis hermanas y a mi familia. Gracias por tantas pláticas y discusiones que me ayudaron a crecer como profesionista y, sobre todo, como ser humano, son parte importante de lo que soy hoy en día y que me acompañará por siempre.*

*A mi muy querido jurado, la profesora Olga Velásquez, la profesora Pilar Granada y al profesor Abel Gutiérrez. Gracias por su tiempo y sus atentos comentarios que permitieron llegar a ser a esta tesis lo que es.*

*A la profesora Olga Velásquez por otorgarme la oportunidad de retarme a mi mismo en este proyecto de tesis tan grato, por confiar en mí y por brindarme tanto de su tiempo.*

*Al profesor Misael González Ibarra. Gracias por el incondicional e invaluable apoyo que proporcionó en mi tesis; su amistad y vasto conocimiento están mezclados entre las líneas aquí escritas, jamás podré llegarle a agradecer suficientemente.*

*A mis amigos. Son innumerables las risas, las lágrimas, las anécdotas y los momentos juntos que hemos compartido durante todo este tiempo. Gracias por tantos momentos tan gratos, espero podamos generar aún más en tantos años que nos quedan por vivir.*

*A la profesora Atziri Corona. De manera especial le agradezco tantas cosas que me ha enseñado y las oportunidades que me ha brindado profesionalmente, no cabe duda que me ha dado oportunidades únicas en mi formación académica; gracias por su sincera amistad y por todo el apoyo tan inesperado pero tan grato que me brindó durante el desarrollo de esta tesis. Usted y la profesora Pilar Granada ocupan un lugar muy especial.*

*Al profesor Alejandro Bonifaz. Gracias por sus sabios consejos ayudaron en esta investigación.*

*A todos mis profesores que durante tantos años me han formado y me han visto crecer, que me han otorgado un poco de su conocimiento y una invaluable amistad. Gracias profesora María del Rayo Salinas, Eduardo Marambio, Ramiro Domínguez, Benjamín Ruíz entre muchos, muchos otros.*

# Índice

1. Marco teórico .....	7
2. Objetivos .....	12
3. Hipótesis .....	13
4. Metodología .....	14
5. Resultados y discusión .....	20
6. Conclusiones .....	27
7. Perspectivas a futuro .....	28
8. Bibliografía .....	29
9. Apéndice .....	33

# Resumen

Con el objeto inicial de aislar e identificar espiroquetas intestinales (EI) del género *Brachyspira* en cerdos, se muestrearon 12 granjas porcinas comerciales del estado de Sonora de octubre a diciembre de 2006, obteniendo muestras de heces por hisopado rectal. En dichas muestras se aisló una gran cantidad de hongos levaduriformes cuyo papel no era claro. Ante éste hallazgo, se hizo necesaria la identificación de las levaduras con el fin de estudiar su posible relación con el aislamiento de EI en cerdos.

La caracterización se realizó microscópicamente por la observación de blastoconidias, inducción de tubo germinativo y fenotípicamente por su perfil de pruebas bioquímicas de auxonograma [Koneman *et al* 1997]. La diferenciación entre *C. albicans* y *C. dubliniensis* se llevó a cabo aislando las colonias características de la muestra en agar comogénico CANDID 2 (BioMérieux®, Francia) y se probó su crecimiento a 45 °C, en medio hipertónico, asimilación de xilosa y desarrollo de pseudomicelio en agar tabaco y agar semilla de girasol. La diferenciación entre *C. glabrata* y *C. zeylanoides* se efectuó por el desarrollo de pseudomicelio en agar harina de maíz con Tween 80 al 1.0 % y por la asimilación de sorbitol. Todas las cepas que no pudieron ser identificadas por las técnicas anteriores se identificaron por medio de tiras APIAUX 20C (BioMérieux®, Francia).

De las 228 colonias analizadas, 56.1 % fueron *C. glabrata*, 24.6 % *C. albicans*, 3.1 % *Blastoschizomyces capitatus*, 1.8 % *C. magnoliae*, 1.8 % *C. lambica*, 0.4 % *C. guilliermondii*; 2.2 % fueron el hongo filamentoso *Geotrichum candidum* y 1.8 % fueron el alga *Prototheca wickerhamii*; 8.3% de las cepas no pudieron ser caracterizadas. No se observó ninguna relación entre el aislamiento de EI y levaduras en intestino de cerdo.

# 1. Marco teórico

Los hongos levaduriformes son microorganismos eucariontes, unicelulares y pleomórficos; pueden encontrarse formas esféricas, ovaladas o incluso semejantes a una botella y su tamaño puede ir desde 1.5  $\mu\text{m}$  hasta 30  $\mu\text{m}$ . La pared celular de estos microorganismos es rica en glucanas, xilanas, mananas, quitina y ergosteroles por lo que guardan una estrecha relación con la composición química de la pared celular de los hongos filamentosos. Las levaduras son un grupo ubicuo, es decir, se encuentran presentes en todo tipo de lugares en la naturaleza; tales como la superficie de los frutos, la tierra y en general formando parte de la microbiota comensal de mamíferos. En el ser humano se puede mencionar como ejemplos los géneros: *Candida*, presente en sistema respiratorio, tracto gastrointestinal y sistema genitourinario, así como *Malassezia* presente en la piel [Murray, 2002].

La importancia clínica de los hongos levaduriformes se debe a que son patógenos oportunistas, es decir, son capaces de establecer cuadros clínicos en pacientes inmunosuprimidos o inmunocomprometidos, por ejemplo, pacientes con VIH-SIDA, pacientes transplantados, bajo tratamiento con corticoesteroides, inmunosupresores, anticarcinógenos o en los casos en los que las barreras biológicas han sido dañadas como en el uso prolongado de catéteres. El género que produce cuadros clínicos con mayor frecuencia, tanto en animales como en el humano, es *Candida* del cual se conocen más de 200 especies.

La frecuencia de aislamiento de levaduras en el ser humano en cuadros infecciosos, en orden decreciente, es: *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Saccharomyces* sp., *Candida krusei*, *Candida guilliermondii*, *Rhodotorula* sp., *Trychosporon* sp. y *Cryptococcus neoformans* [Reydire,

1997]. En el caso de los animales, el género *Candida* toma importancia por estar asociado a cuadros clínicos como mastitis bovina ocasionada por las especies *C. albicans*, *C. parapsilopsis*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, *C. pseudotropicalis*, *C. rugosa* y *C. tropicalis*. Se ha reportado que en ocasiones *C. parapsilopsis* causa abortos en bovinos [Carter, 2004].

En cerdos (*Sus domestica*) se reportan aislamientos en tracto digestivo de *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. slooffiae*, *C. pintolopesii* var. *slooffiae*, *C. kefyri*, *C. krusei*, *C. rugosa* y *C. valida* [Pérez, 1987; Smith, 1989].

Un grupo de microorganismos aislados con frecuencia en el tracto digestivos de cerdos son las algas pertenecientes al género *Prototheca* dentro del grupo *Chlorophyceae*. En el único reporte de la literatura respecto a estas algas se indican valores de frecuencia de aislamiento en heces de cerdos y de jabalíes de 28.9 % y 21.4 % respectivamente [Weber, 1993], también están relacionadas con cuadros de mastitis bovina e infecciones cutaneas principalmente en perros, gatos y castores, e infecciones subcutaneas y diseminadas principalmente en ciervos y perros. A pesar de ser ubicuas, no se sabe a qué se deban los casos de prototecosis ya que llegan a atacar tanto a animales como a humanos inmunocompetentes e inmunosuprimidos con una frecuencia muy baja, razón por la cuál se les considera agentes oportunistas raros, sin embargo, la mayor frecuencia tanto en animales como en humanos se observa en países como Brasil y Australia con casos esporádicos en Estados Unidos, China entre otros.

El trabajo que precede a esta investigación tuvo como objetivo el identificar la presencia de espiroquetas intestinales (EI), particularmente del género *Brachyspira*, debido a que son enteropatógenos causantes de colitis infecciosa, lo cual tiene efecto negativo en la crianza de ganado porcino. De las muestras obtenidas se logró aislar un gran número de levaduras por lo que el interés de esta investigación es identificarlas. Cabe mencionar que no se encontró reportes en la

literatura de casos de coinfección por EI y hongos levaduriformes (HL), sin embargo, se reporta el aislamiento de estos últimos por ejemplo, en carnes frías curadas, aunque se discute más la importancia que tienen afectando las propiedades sensoriales de estos productos que como posibles fuentes de infección por su consumo [Simonsini, 2007].

Históricamente, los primeros reportes sobre los métodos de identificación de hongos levaduriformes fueron realizados por Wickerham [1943]; él mismo reporta mejoras a dicho método en años posteriores [Wickerham, 1946; Wickerham, 1948]. En estos artículos se plantea la utilización de pruebas bioquímicas como la fermentación de melibiosa, urea o la utilización de galactosa, sorbosa, sacarosa, celobiosa, rafinosa, así como la reducción de nitratos, para obtener un perfil bioquímico que permita identificar a la levadura en estudio. Hoy en día, el perfil de asimilación de carbohidratos (auxonograma) y de fermentación de carbohidratos (zimograma) sugerido por Koneman *et al* [1992] comprende 12 pruebas bioquímicas, que incluyen: la asimilación de maltosa, sacarosa, trealosa, galactosa, celobiosa, xilosa, rafinosa, lactosa, dulcitol, melibiosa, así como la lisis de urea y reducción de nitratos. Debido a la importancia clínica de un tratamiento rápido y agresivo para pacientes bajo infección por HL se han desarrollado otros métodos con el objetivo de hacer más rápida y eficiente la identificación. Tal es el caso del desarrollo de la prueba de inducción de tubo germinativo como criterio presuntivo de identificación de *C. albicans* [Traschdijan, 1960], dicha prueba consiste en la filamentación de *C. albicans* cuando se incuba a 37 °C durante un periodo de 2 a 4 horas en suero humano, de conejo u oveja. Cabe destacar que se debe tener especial cuidado en la interpretación de la prueba, ya que la formación de tubos germinativos por *C. albicans* puede confundirse con formación de pseudomicelio por *C. tropicalis*. El tubo germinativo se diferencia del

pseudomicelio (o pseudohifa) en que el primero no presenta constricción alguna en su punto de origen en la célula mientras que sí se observa en el pseudomicelio.

*Candida dubliniensis* es una especie estrechamente relacionada con *C. albicans*; aislada en 1995 de un paciente con VIH con candidiasis oral [Sullivan, 1995]. Fotedar [2004] considera que 12.0 % de las cepas capaces de desarrollar tubo germinativo en un tiempo de 2 a 4 horas son en realidad *C. dubliniensis*, por lo que es imposible diferenciar éstas dos especies de *Candida* por esta prueba. En años recientes se desarrollaron diversas pruebas para distinguirlas, entre ellas destacan la formación de pseudomicelio para *C. dubliniensis* en agar de Pal (agar semilla de girasol), agar de Staib (agar alpiste negro) [Staib, 1999] y agar Tabaco [Tendolkar, 2003; Al-Mosalid, 2003] ya que *C. albicans* crece formando colonias de borde liso sin pseudomicelio en estos medios. Otros criterios fuertemente discriminativos entre ambas especies son:

- La capacidad de *C. albicans* de crecer a 45 °C [Sullivan, 2005; Khan, 2004 y Kumar, 2005].
- La capacidad de *C. albicans* de crecer en medios hipertónicos con NaCl a una concentración al 6.5 % [Sullivan, 2005; Khan, 2004 y Kumar, 2005].
- La asimilación de xilosa exclusiva de *C. albicans*.
- La asimilación de  $\alpha$ -metil-D-glucósido. 91 % de las cepas de *C. albicans* pueden asimilar dicho sustrato contra 5 % de las cepas de *C. dubliniensis* [Ellepola, 2005].

Existen además una gran variedad de métodos de identificación para levaduras, por ejemplo: los medios de cultivo diferenciales como Albicans ID y Albicans ID 2, CHROMagar Candida, las tiras reactivas API 20C AUX, API Candida, Auxacolor, Fungichrom, Fungifast, RapidID Yeast Plus System y Uni-Yeast-Tek cuyos porcentajes de identificación correcta van desde 63.0 % hasta

99.8 %. Existen también métodos automatizados como Biolog YT MicroPlate, ID 32C, MicroScan Yeast Identification Panel, Sherlock Microbial Identification System, VITEK Yeast Biochemical Card, VITEK 2 ID-YST y VITEK 2 YST con porcentajes de correcta identificación de 48.0 % hasta 98.5 % [Pincus, 2007]. Finalmente se deben mencionar los métodos moleculares que permitirán en un futuro la identificación rápida y precisa de HL amplificando las regiones 18s, 5.8s, 26s, ITS1 e ITS2 de los genes que codifican para el rDNA por PCR.

A pesar de la gran diversidad de métodos de identificación de HL conocidos, se siguen utilizando y citando en un gran número de publicaciones la metodología de Wickerham con algunas modificaciones [Wickerham, 1943, 1946, 1948] y el análisis microscópico de clamidoconidias en agar harina de maíz con Tween 80 al 1.0 %; tal como puede observarse en las descripciones de las dos nuevas especies *C. bracariensis* [Correia A, 2006] y *C. nivariensis* [Alcoba J, 2005].

## 2. Objetivos

### 2.1 Objetivo general:

Identificar género y especie de los hongo levaduriformes (HL) aislados en muestras de heces de cerdos de granjas comerciales del estado de Sonora durante la investigación de aislamiento de espiroquetas intestinales (EI), en particular del género *Brachyspira*.

### 2.2 Objetivos específicos:

- 2.2.1 Obtener cultivos axénicos a partir de los cultivos mixtos de levaduras presentes en las muestras analizadas.
- 2.2.2 Obtener el perfil bioquímico del auxonograma de las colonias aisladas e identificar a través de dicho perfil el género y especie del HL analizado.
- 2.2.3 Diferenciar las especies de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*.
- 2.2.4 Diferenciar las especies de *Candida glabrata* y *Candida zeylanoides*.

### 3. Hipótesis

3.1 Se espera que entre los HL analizados, el microorganismo más frecuentemente aislado será *Candida albicans*.

3.2 Es posible encontrar una relación entre la presencia de EI y HL.

## 4. Metodología

---

### 4.1 Recolección de las muestras:

Durante el periodo de octubre a diciembre del 2006, se muestrearon 12 granjas porcinas comerciales de los municipios de Cajeme y Navojoa en Sonora y una en los Mochis, Sinaloa. Las 156 muestras (12 por granja), se obtuvieron por hisopado rectal de cerdos de 6 a 12 semanas de edad con historia clínica de trastornos gastrointestinales o diarrea y retraso en el crecimiento. Las muestras fueron inoculadas en 1 mL de infusión cerebro corazón (Oxoid, UK), suplementado con: Clorhidrato de espectinomicina 88 µg/mL (Sigma, USA), Metanosulfonato de colistina 25 µg/mL (Sigma, USA), Vancomicina 25 µg/mL (Sigma, USA) y Rifampicina 27.5 µg/mL (Aventis, Méx.) Las muestras fueron colocadas en cajas de poli-estireno con refrigerantes para ser enviadas por mensajera especial, buscando que llegaran al laboratorio en un periodo no superior a las 24 horas. Se procedió a la identificación de EI por medio de su patrón bioquímico y tipo de hemólisis.

El 25.6 % de las muestras analizadas presentaron abundancia de HL por lo que se procedió a su aislamiento e identificación.

### 4.2 Aislamiento de las colonias de HL:

Se estirió en una caja de agar Sabouraud la muestra de HL y se eligieron 4 colonias para su análisis. En todos aquellos casos en los que se observó macromorfologías coloniales variadas o al menos dos patrones bioquímicos distintos dentro de una misma muestra, se duplicó la población de estudio, es decir, se analizaron 8 colonias.

#### **4.3 Tinción de Gram:**

Entre las diversas tinciones que pueden implementarse, se realizó una tinción de Gram a cada una de las colonias a analizar para observar la presencia de blastoconidias.

#### **4.4 Inducción de tubo germinativo:**

A una asada de la colonia analizada se le suspendió en 20 µl de suero humano colocado en un pozo de la placa de Terasaki y se incubó a 37±2 °C por dos horas y media exactamente. Transcurrido este tiempo se observó al microscopio la formación de tubos germinativos, es decir elongaciones sin constricción en su punto de unión a la célula. La presencia de tubo germinativo se consideró solamente como criterio presuntivo para la identificación de *C. albicans*.

Junto con cada ensayo se corrió un control positivo de *Candida albicans* ATCC 90028.

#### **4.5 Auxonograma:**

Mediante este ensayo se determina la capacidad de utilizar diferentes carbohidratos como única fuente de carbono por el HL analizado. Los carbohidratos utilizados fueron: maltosa, sacarosa, trealosa, galactosa, celobiosa, xilosa, rafinosa, lactosa, dulcitol y melibiosa. Esta prueba se llevó a cabo inoculando una asada de las colonias en 2 mL del medio de cultivo estéril que contenía la base caldo rojo de fenol adicionada con cada carbohidrato a una concentración final del 1.0 % . Durante 7 días consecutivos se realizó la lectura de los tubos observando el vire del indicador a amarillo producido por la acidificación del medio debido a la fermentación del carbohidrato respectivo y su degradación hasta ácidos orgánicos.

En los casos en los que se presentó ambigüedad en la prueba a los 7 días se continuó con la incubación hasta los 14 días.

En cada ensayo se corrió un control positivo de *C. albicans* ATTC 90028.

#### **4.6 Prueba de utilización de urea:**

Se inoculó una asada de una colonia crecida en agar Sabouraud de 24 a 48 h en tubos de 12x75 mm con caldo sacarosa-urea. Los tubos se incubaron a 28 °C durante 7 días y en los casos en los que se presentó ambigüedad en la interpretación, se continuó la incubación hasta los 14 días. Se realizaron lecturas diarias para determinar si se presentaban cambios en la coloración por el vire del indicador a morado intenso debido a la lisis de la urea.

#### **4.7 Reducción de nitratos:**

En tubos de 12x75 mm con caldo nitratos y provistos con campana de Durham, se llevó a cabo la determinación de la capacidad de reducción de nitratos a nitritos, inoculando los tubos con una asada de la colonia crecida en agar Sabouraud de 24 a 48 h y realizando la lectura a los 7 y hasta los 14 días. El revelado de la prueba se llevó a cabo adicionando dos gotas del reactivo Griess A seguido de dos gotas del reactivo Griess B considerando positiva la prueba si se observaba un cambio de coloración a rojo. En los casos en los que la coloración roja no se observó al adicionar los reactivos de Griess A y Griess B, se adicionó un poco de zinc en polvo para confirmar la presencia de nitratos en el medio de cultivo.

#### **4.8 Diferenciación entre *C. glabrata* y *C. zeylanoides*:**

##### **4.8.1 Desarrollo de pseudomicelio:**

Como primer criterio para diferenciar *C. glabrata* y *C. zeylanoides*, se probó el desarrollo de pseudomicelio en agar harina de maíz con Tween 80 al 1.0 % inoculando una asada de la colonia a analizar por picadura en la caja Petri e incubando a 28 °C durante 72 h.

*C. glabrata*, *C. bracariensis* y *C. nivariensis* son las únicas especies de *Candida* incapaces de desarrollar pseudomicelio [Alcoba, 2005; Correia, 2006; Bishop, 2008], mientras que *C. zeylanoides* sí puede desarrollarlo.

#### **4.8.2 Asimilación de sorbitol:**

En tubos de 12x75 mm con el medio de cultivo compuesto por 2 ml de la base caldo rojo de fenol y sorbitol a una concentración final del 1.0 %, se inoculó una asada de la colonia a analizar y se incubó a 28 °C. Se observó diariamente cada tubo hasta los 14 días para determinar la fermentación del sorbitol por la acidificación del medio de cultivo indicado por el cambio del indicador a amarillo.

### **4.9 Diferenciación entre *C. albicans* y *C. dubliniensis*:**

#### **4.9.1 Selección de colonias en CAND2 ID [BioMérieux®, Francia]:**

Se estrió en una caja de CAND2 ID la muestra de HL en las que se identificó *C. albicans* y se seleccionaron 10 colonias azules (*C. albicans*/*C. dubliniensis*), propagándolas posteriormente en agar Sabouraud de 24 a 48 h a 28 °C.

#### **4.9.2 Crecimiento a 45 °C:**

Las colonias aisladas de CAND2 ID se analizaron inoculándolas en tubos de 12x75 mm con caldo YPD previamente esterilizados e incubando a 45 °C durante 48 h. Esta prueba es 100 % específica y 100 % selectiva para *C. albicans* [Sullivan, 2005].

#### **4.9.3 Crecimiento en medio hipertónico:**

Cada una de las colonias aisladas de CAND2 ID se analizaron inoculando en un tubo de caldo YPD + NaCl al 6.5 % e incubando a 45 °C durante 48 h. Esta prueba también es 100 % selectiva y 100 % específica para *C. albicans* [Sullivan, 2005].

#### **4.9.4 Crecimiento en agar tabaco:**

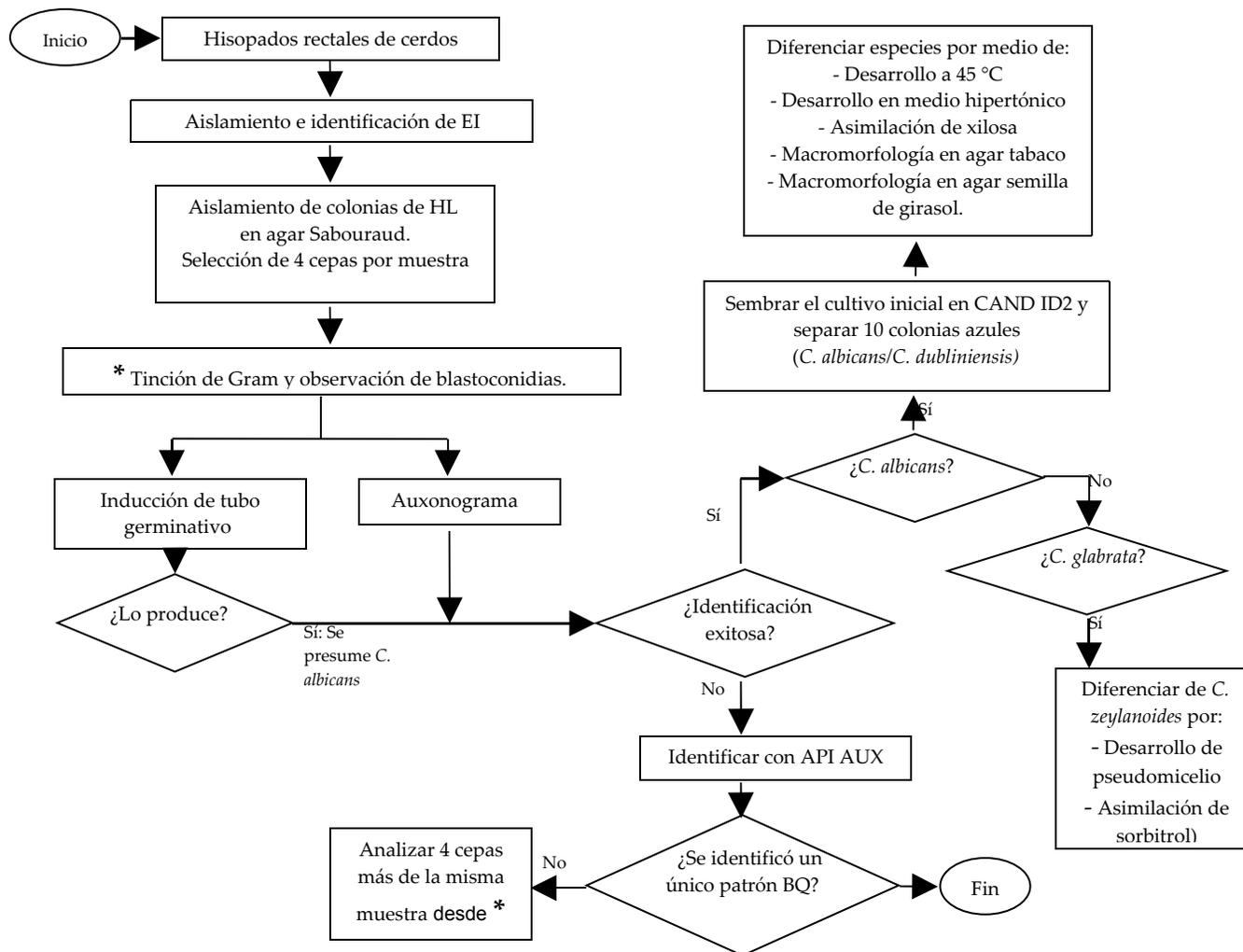
Se inocularon en la superficie del agar las colonias aisladas de CAND2 ID y se incubaron a 28 °C durante 96 h, observando diariamente si se presentaba el desarrollo de pseudomicelio. Se reporta que el desarrollo de pseudomicelio en este medio de cultivo es 100 % específico y 100 % selectivo para *C. dubliniensis* [Khan, 2004; Kumar, 2005].

#### **4.9.5 Crecimiento en agar de Pal (agar semilla de girasol):**

Se inocularon en la superficie del agar las colonias aisladas de CAND2 ID y se incubaron a 28 °C durante 96 h, observando diariamente si se presentaba el desarrollo de pseudomicelio. Al-Mosaid [2003] reporta que el desarrollo de pseudomicelio en este medio de cultivo es 100 % selectivo y 100 % específico para *C. dubliniensis*.

#### **4.10 ) API AUX 20C:**

Todas las cepas que no pudieron ser identificadas por el auxonograma se sometieron a su reanálisis con tiras API AUX 20C conforme a las indicaciones del proveedor.



## 5. Resultados y discusión

Se analizaron un total de 228 colonias obtenidas a partir de 40 muestras de heces de cerdos. Se identificaron 128 colonias (56.1 % del total) como *C. glabrata*, 56 (24.5 %) como *C. albicans*, 4 (1.8 %) como *C. magnoliae*, 7 (3.1 %) como *Blastoschizomyces capitatus* y 4 (1.8 %) como *C. lambica*. 5 de las colonias caracterizadas (2.2 %) fueron identificadas como el hongo filamentoso *Geotrichum candidum* y 4 (1.8 %) como el alga *Prototheca wickerhamii*, microorganismos comúnmente confundidos con hongos levaduriformes [Balows A, 1991]. De de las 228 colonias analizadas, 6 levaduras (8.3 %) no pudieron ser caracterizadas como se muestra en la **Gráfica 1**.

**Gráfica 1.** Frecuencia de identificación de los hongos levaduriformes, en porcentaje del total de las colonias analizadas.

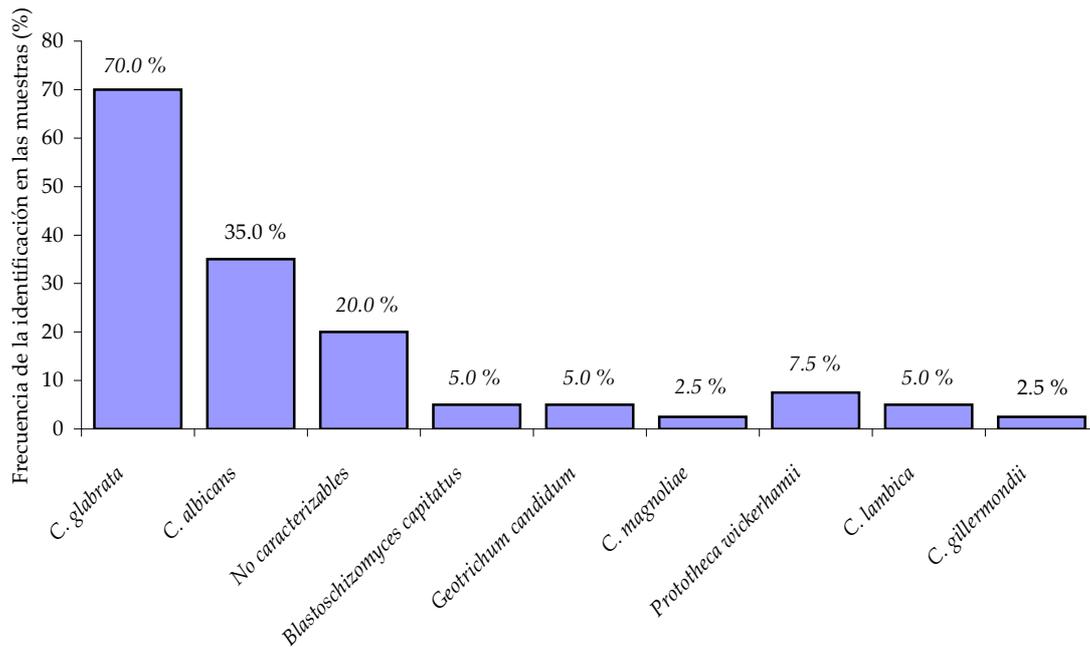
Aunque en la literatura se reporta a *C. albicans* como el HL más frecuentemente aislado en este tipo de muestras, este estudio muestra que *C. glabrata* fue el HL predominante entre la población estudiada. Existen reportes en la literatura que citan el aislamiento de otras especies del género *Candida* en mayor frecuencia que *C. albicans* como *C. parapsilosis* con una frecuencia del 36% [Medrano, 2006] o también *C. glabrata* con una frecuencia que varía desde 32.5 % hasta 61.3 % en seres humanos [Mohanty, 2007; Ray, 2007; Li, 2007]. En este estudio, *C. albicans* sólo estuvo presente en la mitad de las muestras en comparación con *C. glabrata*. Así mismo, el género *Candida* predominó sobre cualquier otro sumando una frecuencia total de 84.67 %.

Cabe destacar que todas las cepas identificadas como *C. albicans* fueron confirmadas por medio de 3 criterios fuertemente discriminativos entre esta especie y *C. dubliniensis*: crecimiento a 45 °C, crecimiento en medio hipertónico con NaCl al 6.5 % p/v y asimilación de xilosa; los tres criterios se consideran 100 % específicos y 100 % selectivos para *C. albicans* [Sullivan, 2005 y Ellepola,

2004]. Como parte del panel de pruebas se realizó la inducción de tubo germinativo considerando que el 12.0 % de las cepas de *C. dubliniensis* son tubo germinativo positivas [Fotedar, 2004]. Por último, se utilizaron el agar tabaco y el agar de Pal para diferenciar la morfología de las colonias. A pesar de que estos dos agares se reportan como sumamente útiles para discriminar entre estas dos especies y después de numerosos ensayos realizados, únicamente el control *C. albicans* ATTC 90028 no desarrolló pseudomicelio aún después de 10 días de incubación [Al-Mosaid, 2003; Kumar 2005]. Todos los ensayos realizados con las cepas aisladas de las muestras desarrollaron pseudomicelio a las 72 h, por lo que no se consideró como criterio para su diferenciación.

Recientemente se reporta la identificación de dos especies nuevas del género *Candida* [Alcoba *et al*, 2005; Fujita *et al*, 2007; Correia *et al*, 2006 y Bishop *et al*, 2008], éstas son *C. bracariensis* y *C. nivariensis*; dichas levaduras poseen una similitud genética con *C. glabrata* del 94.8 % y 97.0 %, respectivamente. En dichos estudios se demuestra la similitud fenotípica y se establece que, hasta el momento, solamente se puede discriminar entre estas tres especies de *Candida* por métodos moleculares, por ejemplo, con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

Con respecto a las 40 muestras analizadas, en 28 de las mismas (70.0 %) se aisló *C. glabrata*, en 14 (35.0 %) *C. albicans*, en 1 (2.5 %) *C. magnoliae* así como *C. gilliermondii*, en 2 de ellas (5.0 %) *B. capitatus* y en 2 muestras (5.0 %) se identificó *C. lambica*; por último, en 2 (5.0 %) se identificó *Geotrichum candidum* y en 3 (7.5 %) se aisló a *Prototheca wickerhamii*. A pesar de la gran frecuencia con que se reporta el aislamiento del género *Prototheca* en heces de cerdos [Weber, 1993], se identificó este de manera muy esporádica entre la población estudiada. Estos datos se presentan en la **Gráfica 2**.



**Gráfica 2.** Porcentaje de las muestras que presentaron colonización por las cepas caracterizadas.

Al comparar los resultados de la caracterización de las levaduras con los resultados del análisis de la presencia de espiroquetas intestinales del estudio que precede a éste, solamente se observó la presencia de *C. glabrata* en las muestras positivas para espiroquetas intestinales sin poderse establecer ninguna relación entre estos microorganismos. En 7 muestras en las que se identificó espiroquetas intestinales, 4 de ellas presentaron también *Salmonella* sp. En ninguna muestra se hallaron espiroquetas intestinales junto con *C. albicans*. Estos datos se detallan en la **Cuadro 1**.

Se realizó una revisión tanto en PUBMED como en la revista *Pig News and Information* de los últimos 10 años, sin embargo, no se encontró ningún reporte de caso de coinfección por HL y EI en cerdos. Con respecto a *P. wickerhamii*, solamente se reportan en PUBMED dos artículos de identificación de algosis en heces de cerdos [Weber, 1993; Pore, 1988] y ninguna cita en *Pig News and Information*.

Granja	Salmonella	Shigella	Espiroquetas (EI)	LEVADURAS			
				<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	Otras	Otros hongos
Abajeño 7	--	--	--	--	+	--	--
Abajeño 8	--	--	--	+	+	--	--
Genex 1	--	--	--	--	+	--	--
Genex 2	--	--	--	--	+	No caracterizable	--
Genex 3	--	--	--	--	+	--	<i>Geotrichum candidum</i>
Sonqui 4	--	+	--	+	+	--	--
Sonqui 5	--	+	--	+	--	--	--
Sonqui 6	--	+	--	--	+	--	--
Sta. Cecilia 2	--	--	--	+	+	<i>Prototheca wickerhamii</i>	--
Sta. Cecilia 5	--	--	--	+	+	--	--
Sta. Cecilia 11	--	--	--	--	+	--	--
Sta. Margarita 2	--	--	--	+	--	<i>C. guillermondi</i>	--
Guayamitas 2	--	--	--	+	--	--	--
Guayamitas 3	--	--	--	+	--	--	--
Guayamitas 8	--	--	--	--	--	<i>C. magnoliae</i>	--
La Esthercita 11	<i>Salmonella</i> sp.	--	--	--	--	<i>Prototheca wickerhamii</i>	<i>Blastoschizomyces capitatus</i>
La Esthercita 12	<i>Salmonella</i> sp.	--	--	--	+	--	--
Los Olivos 2	<i>S. arizonae</i> <i>Salmonella</i> sp.	--	--	--	--	No caracterizable	--
Rosita y Lolita 3	--	--	--	--	+	No caracterizable	--

**Cuadro 1.** Intersecciones entre las poblaciones caracterizadas en las muestras analizadas.

Granja	Salmonella	Shigella	Espiroquetas (EI)	LEVADURAS			
				<i>C. albicans</i>	<i>C. glabrata</i>	Otras	Otros hongos
Rosita y Lolita 6	--	--	--	+	--	--	<i>Geotrichum candidum</i> <i>Blastoschizomyces capitatus</i>
Cienega 88 4	--	--	--	--	+	--	--
Cienega 88 5	--	--	--	--	+	<i>C. lambica</i> <i>Prototheca wickerhamii</i>	--
Cienega 88 7	--	--	--	--	+	--	--
Cienega 88 8	--	--	--	--	+	--	--
Cienega 94 3	--	--	--	--	+	<i>C. lambica</i> <i>Prototheca wickerhamii</i>	--
La R 2	<i>Salmonella</i> sp.	--	+	--	+	No caracterizable	--
La R 3	<i>Salmonella</i> sp.	--	+	--	+	No caracterizable	--
La R 10	<i>Salmonella</i> sp.	--	+	--	+	--	--
La R 12	<i>Salmonella</i> sp.	--	+	--	+	--	--
Josefina 4	--	--	--	+	+	No caracterizable	--
San David 3	--	--	--	--	+	--	--
San David 6	--	--	--	--	+	No caracterizable	--
San Felipe 2	--	--	+	--	+	--	--
San Felipe 3	--	--	+	--	+	--	--
San Felipe 4	--	--	+	--	+	--	--
Tlacotepec 3	--	--	--	--	+	--	--
La Ceja 2	--	--	--	+	--	--	--
La Ceja 3	--	--	--	+	--	--	--
La Ceja 4	--	--	--	+	--	--	--
La Ceja 6	--	--	--	+	--	--	--

**Cuadro 1.** (Continuación)

RESUMEN							
40 muestras	<i>Salmonella</i> sp. presente en 7 muestras; una de ellas también presenta <i>S. arizonae</i>	<i>Shigella</i> presente en 3 muestras; ninguna con EI, 2 con <i>C. albicans</i> y 1 con <i>C. glabrata</i>	EI presentes en 7 muestras, de las cuales 4 presentan además <i>Salmonella</i> .	<i>C. albicans</i> presente en 14 muestras; ninguna con EI. 1 de ellas presenta <i>Shigella</i> y <i>C. glabrata</i>	30 muestras presentaron <i>C. glabrata</i> , incluyendo las 7 que tienen EI. Hay 5 muestras que presentan <i>C. albicans</i> y <i>C. glabrata</i>	5 de las 7 levaduras no caracterizables están presentes en muestras donde también hay <i>C. glabrata</i> , 1 estuvo presente junto con <i>C. glabrata</i> y <i>C. albicans</i> . En la otra muestra no se encontraron otras levaduras pero hay <i>Salmonella arizonae</i> y sp. 3 presentaron <i>Prototheca wickerhamii</i> y en 1 de ellas además presentó <i>C. lambica</i> . 1 presentó <i>C. magnoliae</i> y 1 <i>C. lambica</i> .	1 muestra presentó contaminación por <i>Geotrichum candidum</i> , 1 <i>Blastoschizomyces capitatus</i> y 1 por ambos hongos filamentosos.

**Cuadro 1. (Continuación)**

## 6. Conclusiones

- 6.1 *C. glabrata* fue el hongo levaduriforme aislado con mayor frecuencia entre la población de estudio (56.1 %) presente en 70 % de los cultivos.
- 6.2 En todas las muestras en las que se detectaron espiroquetas intestinales también se aisló *C. glabrata*.
- 6.3 En ninguna de las muestras en las que se identificó *C. albicans* se aislaron espiroquetas intestinales.
- 6.4 El género *Candida* se encontró predominantemente entre las muestras analizadas (84.7 %).
- 6.5 Para la diferenciación de *C. albicans* y *C. dubliniensis*, los tres criterios altamente discriminativos utilizados indicaron que el 100 % de las colonias identificadas como *C. albicans* lo son positivamente.
- 6.6 En la diferenciación de *C. glabrata* y *C. zeylanoides*, 100 % de las colonias fueron *C. glabrata*.
- 6.7 El hongo levaduriforme menos frecuentemente aislado fue *C. guilliermondii* (0.4 % de las muestras).
- 6.8 Se aisló el alga *Prototheca wickerhamii* en 7.5 % de las muestras analizadas.

## 7. Perspectivas a futuro

Basándose en la similitud fenotípica entre *C. glabrata*, *C. bracariensis* y *C. nivariensis*, se sugiere ahondar más en este estudio y llevar a cabo una tipificación por medio de hibridación *in situ* por sondas fluorescentes o por PCR, para distinguir entre estas especies a fin de determinar si entre la población caracterizada fenotípicamente como *C. glabrata* se encuentran o no las otras dos especies. Así mismo, se sugiere el determinar si *P. wickerhamii* tiene o no alguna relación con los cuadros clínicos de los cerdos en las zonas muestradas o simplemente se presenta como contaminación en las muestras.

## 8. Bibliografía

- ✓ Alcoba, J. *et al.* 2005. Phenotypic and Molecular Characterization of *Candida nivariensis* sp. nov., a Possible New Opportunistic Fungus. *J Clin. Microbiol*, **48** (8): 4107-4111.
- ✓ Al-Mosaid, A., Sullivan, D.J. & Coleman, D.C. 2003. Differentiation of *Candida albicans* from *Candida dubliniensis* on Pal's agar. *J Clin Microbiol*, **41** (10): 4787-4789
- ✓ Balows, A. *et al.* 1991. Manual of Clinical Microbiology. 5ª edición. American Society of Microbiology. Washington, DC. pp. 617-629.
- ✓ Bishop, J.A. *et al.* 2007. *Candida bracariensis* detected among Isolates of *Candida glabrata* by Peptide Nucleic Acid Fluorescence In Situ Hybridization: Susceptibility Data and Documentation of Presumed Infection. *J Clin. Microbiol*, **46** (2): 443-446.
- ✓ Carter, G.R. & Wise, D.J. 2004. Essentials of Veterinary Bacteriology and Micology. 6ª Edición. Ed. Iowa State Press. pp. 257-261.
- ✓ Correia, A. *et al.* 2006. *Candida bracariensis* sp. nov., a novel anamorphic yeast species phenotypically similar to *Candida glabrata*. *Int J Sys Evol Microbiol*, **56**: 313-317.
- ✓ Ellepola, A. & Morrison, C. 2005. Laboratory Diagnosis of Invasive Candidiasis. *The Journal of Microbiology*, **43**, fascículo especial (No. S):65-84.
- ✓ Fujita, S. *et al.* 2007. Catheter-Related Fungemia due to Fluconazole-Resistant *Candida nivariensis*. *J Clin Microbiol*, **45** (10): 3459-3461.
- ✓ Fotedar, R. & Al-Hedaithy S.S.A. 2004. Prevalence of *Candida dubliniensis* among germ tube-positive yeast recovered from the respiratory specimens in HIV-negative patients. *Mycoses*, **47** (3-4):150-155.
- ✓ Inserto API® 20C AUX, REF 20 210, Laboratorios BioMérieux® S.A., Francia.
- ✓ Khan, Z.U., Ahmad, K., Mokaaddas, E. & Chandy, R. 2004. Tobacco agar, a new medium for differentiating *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *J Clin Microbiol*, **42** (10):4796-4798.
- ✓ Koneman, E.W. *et al.* 1992. Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, 5ª edición, Lippincott-Raven Publishers, Filadelfia, EUA. pp. 1040-1058.

- ✓ Kumar, C.P. & Menon, T. 2005. Tobacco agar: a new medium for chlamydosporulation in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*. *Med Mycol*, **43** (10):473-475.
- ✓ Li, L., Redding, S. & Dongari-Bagtzoglou, A. 2007. *Candida glabrata*, an emerging oral oportunist pathogen. *J Den Res*, **86** (3):204-215.
- ✓ Medrano, DJ. *et al.* 2006. Candidemia in Brazilian hospital: The importance of *Candida parapsilosis*. *Rev Inst Med trop S Paulo*, **48** (1):17-20.
- ✓ Mohanty, S. *et al.* 2007. Prevalence & susceptibility to fluconazole of *Candida* species causing vulvo vaginitis. *Ind J Med Res*, **123** (6):216-219.
- ✓ Murray, P.R. *et al.* 2002. Microbiología Médica, 4ª edición, Ed. Elsevier, Madrid, España, pp. 66-69, 653-654.
- ✓ Pérez. J.A. *et al.* 1987. Procedimientos de Laboratorio para Bacteriología y Micología Veterinarias. UNAM, México. pp. 116-117.
- ✓ Pincus, D.H., Orega S. & Chatellier, S. 2007. Yeast identification- past, present and future methods. *Medical Mycology*, **45**:97-121.
- ✓ Pfaller, M.A. *et al.* 2006. *Candida rugosa*, an Emerging Fungal Pathogen with Resistance to Azoles. *J Clin Microbiol*, **44** (10):3578 -3582.
- ✓ Pore, R.S. & Shahan T.A. 1988. *Prototheca zopfii*: natural transient, occurrence in pigs and rats. *Mycopathologia*, **101** (2):85-88.
- ✓ Ray, D. *et al.* 2007. Suppositories in comparison with oral fluconazole in patients with diabetes and vulvovaginitis candidiasis. *Diabetes Care*, **30** (2):312-317.
- ✓ Reydière, A.M. & Guinet, R. 1997. Rapid methods for identification of the most frequent clinical yeasts. *Rev. Iberoam Micol*, **14**:85-89.
- ✓ Simoncini, N., Rotelli, D., Virgili, R., Quintavalla, S. 2007. Dynamics and characterization of yeasts during ripening of typical Italian dry-cured ham. *Food Microbiol*, **24**: 577-584.
- ✓ Smith, J. M. B. 1989. Opportunistic Mycoses of Man and Other Animals. C. A. B. International Mycological Institute. Reino Unido. pp. 13, 16.
- ✓ Staib, P. & Morchhäuser, J. 1999. Chlamydospore formation on Staib agar as a species-specific characteristic of *Candida dubliniensis*. *Mycoses*, **42**: 521-524.
- ✓ Sullivan, D.J., Moran, G.P. & Coleman, D.C. 2005. *Candida dubliniensis*: Ten years. *FEMS Microbiol Lett*, **253** (1): 9-17.

- ✓ Sullivan, D.J., Westerneng, T.J., Haynes, K.A., Bennett, D.E., & Coleman, D.C. 1995. *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of a novel species associated with oral candidosis in HIV-infected individuals. *Microbiology*, **141**:1507-1521.
- ✓ Tendolkar, U., Tainwala, S., Jog, S. & Mathur, M. 2003. Use of a new medium – Tobacco agar, for pigment production of *Cryptococcus neoformans*. *Indian J Med Microbiol*, **21** (4):277-279.
- ✓ Trasdijan, C.L., Burchall, J.L. & Kozinn, P.J. 1960. Rapid identification of *Candida albicans* by filamentation on serum substitutes. *J Dis Child*, **99**:212-215.
- ✓ Weber, J & Enders, F. 1993. The occurrence of *Prototheca* in fecal samples of domestic and wild swine. *Berl Munch Tierarztl Wochenschr*, **106** (8):261-263.
- ✓ Wickerham, L.J. 1943. A simple method for detection of melibiose-fermenting yeasts. *J Bacteriol*, **46** (6):501-5.
- ✓ Wickerham, L.J. 1946. A critical evaluation of the nitrogen assimilation tests commonly used in the classification of the yeasts. *J Bacteriol*, **52** (3):293-301.
- ✓ Wickerham, L.J. 1948. Carbon assimilation tests for the classification of yeasts. *J Bacteriol*, **56** (3):363-371.

## 9. Apéndice

- Auxonogramas:

### Bloque 1:

Muestra: Abajeño 7

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: Abajeño 8

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
5	+	+	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i> 1 *
6	+	+	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i> 1 *
7	+	+	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i> 1 *
8	+	+	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i> 1 *

\*Identificadas por API AUX 20C (97.2%)

Muestra: Genex 1

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: Genex 2

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
2	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
5	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
6	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
7	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
8	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: Genex 3

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	--	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Geotrichum candidum</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
5	--	--	--	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Geotrichum candidum</i>
6	--	--	--	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Geotrichum candidum</i>
7	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
8	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: Sonqui 4

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
5	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
6	+	+	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans 1 *</i>
7	+	+	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans 1 *</i>
8	+	+	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans 1 *</i>

\* Identificadas por API AUX 20C (97.2%)

Muestra: Sonqui 5

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
2	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
3	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
4	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>

Muestra: Sonqui 6

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Candida glabrata</i>
2	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Candida glabrata</i>
3	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Candida glabrata</i>
4	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: Santa Cecilia 2

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	-	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
3	--	--	+	-	--	-	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
5	--	--	+	--	--	-	--	--	+	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
6	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Prototheca wickerhamii</i>
7	+	+	+	+	--	+	--	--	+	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
8	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>

Muestra: Santa Cecilia 5

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans 1 *</i>
4	--	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans 1 *</i>
5	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
6	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
7	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
8	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

\* Identificadas por API AUX 20C (97.6 %)

Muestra: Santa Cecilia 11

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: Santa Margarita 2

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
2	+	+	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans 1 *</i>
3	--	+	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans 1 *</i>
4	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
5	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
6	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
7	+	+	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
8	+	+	+	+	+	+	+	--	+	+	--	--	--	NA	NA	<i>Candida gilliermondii</i>

\* Identificadas por API AUX 20C (97.2%)

## Bloque 2:

Muestra: Guayamitas 2

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
2	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
3	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
4	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>

Muestra: Guayamitas 3

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
2	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
3	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
4	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>

Muestra: Guayamitas 8

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Candida magnoliae</i>
2	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Candida magnoliae</i>
3	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Candida magnoliae</i>
4	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Candida magnoliae</i>

Muestra: La Esthersita 11

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Blastoschizomyces capitatus</i>
2	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Blastoschizomyces capitatus</i>
3	--	--	+	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Prototheca wickerhamii</i>
4	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Blastoschizomyces capitatus</i>
5	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Blastoschizomyces capitatus</i>
6	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Blastoschizomyces capitatus</i>
7	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Blastoschizomyces capitatus</i>
8	--	--	+	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Prototheca wickerhamii</i>

Muestra: La Esthersita 12

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: Los Olivos 2

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	+	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
2	--	+	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
3	--	+	--	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
4	+	+	--	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
5	--	+	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
6	+	+	--	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
7	--	+	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
8	--	+	--	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable

Muestra: Rosita y Lolita 3

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	+	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
3	--	+	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
4	--	+	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
5	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
6	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
7	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
8	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: Rosita y Lolita 6

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	--	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Geotrichum candidum</i>
2	--	--	--	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Geotrichum candidum</i>
3	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Blastoschizomyces capitatus</i>
4	--	+	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
5	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
6	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
7	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
8	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>

### Bloque 3:

Muestra: Cienega 88 4

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: Cienega 88 5

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Candida lambica</i>
4	--	--	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Candida lambica</i>
5	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
6	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
7	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
8	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: Cienega 88 7

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: Cienega 88 8

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: Cienega 94 3

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Candida lambica</i>
2	--	--	+	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Prototheca wickerhamii</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	--	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	<i>Candida lambica</i>
5	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
6	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
7	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
8	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: La "R" 2

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	+	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
5	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
6	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
7	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
8	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: La "R" 3

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
5	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
6	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
7	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	No identificable
8	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: La "R" 10

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: La "R" 12

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: Josefina 4

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>
5	--	+	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
6	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
7	+	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	No identificable
8	+	+	+	+	--	+	--	--	--	--	--	--	+	NA	NA	<i>Candida albicans</i>

Muestra: San David 3

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: San David 6

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	+	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	NA	NA	No identificable
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
5	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
6	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
7	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
8	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: San Felipe 2

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: San Felipe 3

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: San Felipe 4

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

## Bloque 4:

Muestra: Tlacotepec 3

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
2	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
3	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>
4	--	--	+	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--	<i>Candida glabrata</i>

Muestra: La Cesa 2

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>
2	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>
3	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>
4	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>

\* Identificada por API AUX 20C (98.5 %)

Muestra: La Cesa 3

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>
2	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>
3	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>
4	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>

\* Identificada por API AUX 20C (98.5 %)

Muestra: La Cesa 4

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>
2	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>
3	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>
4	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>

\* Identificada por API AUX 20C (98.5 %)

Muestra: La Cesa 6

Colonia	Mal	Sac	Tre	Gal	Cel	Xil	Raf	Lac	Dul	Mel	Ure	NO <sub>3</sub>	TG	CM+Tw80	Sor	Identificación
1	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>
2	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>
3	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>
4	+	--	+	--	--	+	--	--	--	--	--	--	+	--	--	<i>Candida albicans 2 *</i>

\* Identificada por API AUX 20C (98.5 %)

- Diferenciación entre *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*.

Muestra: Sonqui 4									
Colonia	CAND2 ID	Agar de Pal	Agar Tabaco	TG	Xil	Crecimiento a 45 °C	Crecimiento en caldo YPD + NaCl (6.5% p/v)	CM + Tween 80	Identificación
1	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
2	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
3	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
4	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
5	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
6	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
7	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
8	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
9	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
10	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>

Muestra: Sonqui 5									
Colonia	CAND2 ID	Agar de Pal	Agar Tabaco	TG	Xil	Crecimiento a 45 °C	Crecimiento en caldo YPD + NaCl (6.5% p/v)	CM + Tween 80	Identificación
1	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
2	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
3	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
4	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
5	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
6	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
7	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
8	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
9	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
10	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>

Muestra: Santa Cecilia 2									
Colonia	CAND2 ID	Agar de Pal	Agar Tabaco	TG	Xil	Crecimiento a 45 °C	Crecimiento en caldo YPD + NaCl (6.5% p/v)	CM + Tween 80	Identificación
1	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
2	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
3	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
4	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
5	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
6	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
7	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
8	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
9	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
10	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>

Muestra: Santa Cecilia 5									
Colonia	CAND2 ID	Agar de Pal	Agar Tabaco	TG	Xil	Crecimiento a 45 °C	Crecimiento en caldo YPD + NaCl (6.5% p/v)	CM + Tween 80	Identificación
1	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
2	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
3	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
4	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
5	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
6	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
7	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
8	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
9	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
10	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>

Muestra: Santa Margarita 2									
Colonia	CAND2 ID	Agar de Pal	Agar Tabaco	TG	Xil	Crecimiento a 45 °C	Crecimiento en caldo YPD + NaCl (6.5% p/v)	CM + Tween 80	Identificación
1	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
2	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
3	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
4	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
5	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
6	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
7	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
8	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
9	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
10	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>

Muestra: Guayamitas 2									
Colonia	CAND2 ID	Agar de Pal	Agar Tabaco	TG	Xil	Crecimiento a 45 °C	Crecimiento en caldo YPD + NaCl (6.5% p/v)	CM + Tween 80	Identificación
1	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
2	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
3	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
4	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
5	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
6	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
7	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
8	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
9	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
10	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>

Muestra: Guayamitas 3									
Colonia	CAND2 ID	Agar de Pal	Agar Tabaco	TG	Xil	Crecimiento a 45 °C	Crecimiento en caldo YPD + NaCl (6.5% p/v)	CM + Tween 80	Identificación
1	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
2	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
3	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
4	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
5	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
6	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
7	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
8	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
9	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
10	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>

Muestra: Rosita y Lolita 6									
Colonia	CAND2 ID	Agar de Pal	Agar Tabaco	TG	Xil	Crecimiento a 45 °C	Crecimiento en caldo YPD + NaCl (6.5% p/v)	CM + Tween 80	Identificación
1	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
2	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
3	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
4	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
5	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
6	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
7	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
8	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
9	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
10	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>

Muestra: Josefina 4									
Colonia	CAND2 ID	Agar de Pal	Agar Tabaco	TG	Xil	Crecimiento a 45 °C	Crecimiento en caldo YPD + NaCl (6.5% p/v)	CM + Tween 80	Identificación
1	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
2	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
3	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
4	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
5	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
6	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
7	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
8	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
9	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>
10	Colonia azul	Pseudomicelio	Pseudomicelio	+	+	+	+	Pseudomicelio, clamidoconidias terminales sencillas.	<i>Candida albicans</i>

- **Preparación de medios de cultivo:**

- Auxonograma:

Para preparar el auxonograma se disolvieron 15.0 g de Base Caldo Rojo de Fenol (Bioxon, BD de México S.A. de C.V. Lot. 27121842), en un litro de agua desionizada, se ajustó el pH a 7.4 y se distribuyó la base caldo rojo de fenol en varios matraces, disolviendo un único carbohidrato por matraz a una concentración final del 1.0 % p/v. Se dispuso en volúmenes de 1.7 mL en tubos de ensayo de 12x75 mm y se esterilizaron a 110 °C (11 lb/in<sup>2</sup>) por 10 minutos conforme a las indicaciones del fabricante.

Los carbohidratos utilizados fueron los siguientes:

D-Maltosa: Difco: Labs, EUA. Lot. 2527

D-Sacarosa: J.T. Baker S.A. de C. V., México Lot. 401351

D-Trealosa: Disco Labs, EUA, Lot. 0180-12

D-Galactosa: Pfansstiehl Labs. Inc., EUA, Lot. -No disponible-

D-Celobiosa: Sigma-Aldrich, EUA. Lot. 106K1854

D-Xilosa: Bioxon, BD de México S. A. de C. V. Lot. 1795H3XIL

D-Rafinosa: Merck, Alemania. Lot. 1166886

(+/-)-Lactosa: Laboratorios Central. Lot. ND

(+/-)-Dulcitol: BBL, Bioquest, EUA. Lot. 001632

D-Melibiosa: Merck, Alemania. Lot. K2437844809

(+/-)-Sorbitol

➤ Caldo sacarosa-urea:

Se disolvió caldo urea (Bioxon, BD de México S.A. de C.V., Lot. 05F21522) en un litro de agua desionizada conforme a las indicaciones del fabricante, adicionando sacarosa (J.T. Baker S.A. de C. V., México Lot. 401351) a una concentración final del 1.0 % p/v, posteriormente se ajustó el pH a 7.4 y se esterilizó en autoclave a 105 °C por 5 minutos.

➤ Caldo Nitratos:

Se disolvieron 3.0 g de extracto de carne (Oxoid, Unipath Ltd. Inglaterra Lot. X592B), 5.0 g de peptona de carne (Bioxon, BD de México S.A. de C.V. Lot. 6191039), 1.0 g de nitrato de potasio (Prods. Químicos Monterrey, S.A., México Lot. 0025M8) en un litro de agua desionizada; se llenaron tubos de 12x75 mm provistos con campana de Durham y se esterilizó en autoclave a 121 °C a 15 lb/in<sup>2</sup> durante 15 minutos.

▪ Reactivos de Griess A y Griess B:

- Griess A (NIT1)(DADE S.A., EUA Lot. 061197) ácido sulfanílico 0.8 % p/v (0.24 g), ácido acético glacial (8.4 mL) y agua desionizada (21 mL).
- Griess B (NIT2)(DADE S.A., EUA Lot. 121997) compuesto por N,N-dimetil- $\alpha$ -naftilamina 0.5 % p/v

(0.15 mL), ácido acético glacial (8.0 mL) y agua desionizada (21.6 mL).

➤ Agar de Pal (agar semilla de girasol):

Se preparó el agar conforme a la metodología de Al-Mosaïd *et al* [2003]; se pulverizaron 50 g de semillas de girasol en una licuadora (Osterizer Mod. 450-10) por 5 minutos y se adicionó un litro de agua desionizada, se llevó a ebullición por 3 minutos, se dejó enfriar el extracto, se filtró a través de gasa y se le adicionó 1.0 g de glucosa (Merck-México Lot. 109228 N), 1.0 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (J.T. Baker S.A. de México. Lot. M-26151 y 1.0 g de creatinina (Merck, Alemania. Lot. 0059663); se ajustó el pH a 5.5 y se llevó a volumen de 1.0 L adicionando posteriormente 15.0 g de agar-agar (Bioxon, BD de México S.A. de C.V. Lot. 6215363) llevando nuevamente a ebullición para fundir el agar. Se esterilizó por calor húmedo a 110 °C por 20 minutos y posteriormente se vertió en cajas Petri desechables estériles.

➤ Agar tabaco:

Se preparó el agar conforme a la metodología de Kumar *et al* [2005] con la modificación de que el tabaco se obtuvo de puros sin curar marca “El Aroma” de San Andrés Tuxtla, Veracruz. Cabe mencionar que Khan, Z. ha ensayado con tabaco obtenido de

cigarrillos marca Malboro [Khan, 2004] por lo que se procedió de la manera que se describe a continuación:

50 g del puro se cortaron en pequeños trozos, se colocaron en un litro de agua desionizada y se hirvieron por 3 minutos, se dejó enfriar el extracto de tabaco, se filtró a través de gasa y se ajustó el pH a 6.0; posteriormente se adicionaron 20.0 g de agar-agar y se llevó a ebullición nuevamente para fundir el agar-agar, se esterilizó por calor húmedo a 121 °C a 15 lb/in<sup>2</sup> por 15 minutos y se vertió en cajas Petri desechables estériles.

➤ Caldo YPD y caldo YPD + NaCl 6.5 % (p/v):

Se disolvieron 20.0 g de dextrosa (J.T. Baker S. A. de C. V., México Lot. 136811), 20.0 g de triptona (digerido pancreático de caseína, Bioxon, BD de México S.A. de C.V. Lot. 6191039) y 10.0 g de extracto de levadura (DIFCO Laboratorios, EUA) en 1 L de agua desionizada, se ajustó el pH a 6.5 y se distribuyó en tubos de 12x75 mm con 2 mL de caldo cada uno. Se esterilizó por calor húmedo a 121 °C y 15 lb/in<sup>2</sup> por 15 minutos. En el caso de Caldo YPD + NaCl (6.5 % p/v) se disolvieron, junto con los otros componentes, 65.0 g de NaCl (REPROFIQUIN S.A. de C. V. Lot. 13950-C) y se procedió de la misma manera.

➤ Agar Harina de Maíz (DIFCO) + Tween 80 (1.0 % v/v)

Se suspendieron 17.0 g del medio deshidratado en 990 ml de agua desionizada y se le adicionaron 10.0 ml de Tween 80 (Sigma, MO), llevando a ebullición para fundir el agar, con agitación constante. Se esterilizó el medio a 121 °C (15 lb/in<sup>2</sup>) por 15 minutos y se distribuyó en cajas Petri desechables estériles.