

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Evaluación de sensibilidad y especificidad del agar Harina de maíz + Tween 80,  
CHROMagar Candida y MicroScan para la identificación de especies aisladas de  
*Candida*.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
P R E S E N T A  
ERIKA SILVIA GARNICA OCEGUEDA

MÉXICO, D. F.

2009



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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. ABEL GUTIERREZ RAMOS            |
| VOCAL         | Prof. JOSE ALEXANDRO BONIFAZ TRUJILLO |
| SECRETARIO    | Prof. MISAEL GONZALEZ IBARRA          |
| 1er. SUPLENTE | Prof. JOSE CORDERO HERNANDEZ          |
| 2do. SUPLENTE | Prof. ROSALBA ESQUIVEL COTE           |

Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio de Micología.  
Hospital General de México SSA.

Asesor del tema:

M. en C. JOSE ALEXANDRO BONIFAZ TRUJILLO

Supervisor técnico:

Q. F. B. JAVIER ARAIZA SANTIBAÑEZ

Sustentante:

ERIKA SILVIA GARNICA OCEGUEDA

## AGRADECIMIENTOS

*A mis padres, Clemente y Esperanza:*

*Que me dieron siempre lo mejor, apoyo, confianza y sobre todo, su amor... los quiero mucho*

*A mis hermanos Lizett, Ivan y Jaime:*

*Que siempre me apoyaron incondicionalmente... con amor*

*A mis amigos, Javier, Marco y Paty:*

*Quienes compartieron Micología conmigo... los quiero*

*A la Q. Zara Arroyo y al QFB. David Moncada:*

*Quienes me ayudaron en la realización de esta Tesis... con aprecio, gracias*

*Y sobre todo a mi profesor, M. en C. Alexandro Bonifaz:*

*Por su paciencia, apoyo y confianza... Con total admiración y respeto, gracias*

## ÍNDICE

|   |    |
|---|----|
| 1. Introducción.....                              | 5  |
| 2. Planteamiento del problema.....                | 6  |
| 3. Justificación.....                             | 6  |
| 4. Objetivos.....                                 | 7  |
| 5. Antecedentes.....                              | 8  |
| 5.1 Generalidades del género <i>Candida</i> ..... | 8  |
| 5.2 Candidosis.....                               | 13 |
| 5.3 Medio de agar Harina de maíz + Tween 80...18  |    |
| 5.4 CHROMagar Candida®.....                       | 20 |
| e) MicroScan® (WalkAway 96).....                  | 21 |
| 6. Metodología.....                               | 22 |
| 7. Resultados.....                                | 27 |
| 8. Discusión.....                                 | 48 |
| 9. Conclusiones.....                              | 56 |
| 10. Bibliografía.....                             | 61 |

## 1. INTRODUCCIÓN

La candidosis es una micosis causada por diversas especies de levaduras oportunistas del género *Candida*, especialmente *Candida albicans*, que puede generar desde cuadros clínicos superficiales hasta profundos o sistémicos. La manifestación clínica más frecuente es a nivel de mucosas (boca, vagina), piel, uñas, y de manera excepcional otros órganos como pulmones, intestinos, riñones etc.<sup>1-3</sup>

Esta micosis es conocida desde la antigüedad y su incidencia global ha aumentado en los últimos años.<sup>4, 5</sup> En general afecta a todos los grupos de edad, sexo, raza y ocupación, aunque algunos tipos particulares de candidosis afectan con mayor frecuencia a determinados grupos de personas. Diversas especies de *Candida* se encuentran en el humano como comensales, en tracto gastrointestinal, habitando boca, laringe, faringe, vagina, tracto genitourinario, tracto respiratorio. Lo que determina el desarrollo de la enfermedad es la presencia de factores de oportunismo que predisponen a un individuo como son los procesos debilitantes, destacando la diabetes mellitus, cáncer hemático, tratamientos con antibióticos de amplio espectro, esteroides y citotóxicos, inmunodeficiencias, en particular el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA).<sup>6,7</sup>

El diagnóstico de laboratorio de esta enfermedad es sencillo, se hace observando las estructuras micóticas mediante exámenes directos y tinciones, así como el aislamiento de las levaduras en medios de cultivos específicos y su posterior identificación. Cada vez es más importante el aislamiento y la identificación correcta de las especies de *Candida* sobre todo porque con mayor frecuencia se aíslan cepas resistentes al tratamiento.<sup>8</sup>

En el mercado se encuentran varios métodos comerciales para la identificación de levaduras patógenas, utilizando diferentes características de las mismas, como es la morfología microscópica y macroscópica, mediante criterios bioquímicos como son: la asimilación de carbohidratos (zimograma y auxonograma), métodos enzimáticos, semiautomáticos y automáticos. Estos métodos facilitan la identificación de levaduras y se basan en la metodología convencional.<sup>2, 9,10</sup>

El presente trabajo tiene como finalidad el comparar y evaluar la capacidad del medio harina de maíz + Tween 80, CHROMagar Candida® y el sistema MicroScan® (Walk Away 96), para identificar las distintas especies de *Candida*.

## 2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

La incidencia de las infecciones fúngicas oportunistas han aumentado en los últimos años, existiendo en la actualidad un mayor número de personas con riesgo de adquirir micosis que en décadas previas.<sup>2-5</sup>

La candidosis es la micosis más frecuente en los humanos, causada por diversas levaduras endógenas del género *Candida*, siendo todavía *Candida albicans* la especie más frecuentemente involucrada en estas infecciones, sin embargo, en aproximadamente 35% de las candidosis sistémicas ha sido reemplazada por especies “no-albicans”<sup>13</sup>, de estas las principales especies descritas en la literatura son: *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida dubliniensis*, *Candida guilliermondii*, siendo todas de distribución universal y generando para el clínico dificultades terapéuticas.<sup>3,14</sup>

Aunque el cultivo y la identificación específica de estas levaduras constituyen las técnicas clásicas para realizar un diagnóstico micológico, actualmente se están introduciendo nuevas alternativas con gran fiabilidad.



### 3. JUSTIFICACIÓN:

Cada vez es más importante el aislamiento y tipificación de las especies de *Candida* involucradas en una candidosis, sobre todo porque con mayor frecuencia se aíslan cepas resistentes al tratamiento.<sup>3, 15</sup>

Dentro de las pruebas convencionales para la identificación de levaduras, encontramos la formación de tubos germinativos, producción de clamidoconidios en agar harina de maíz agar + Tween 80, siendo estas, técnicas descritas en la literatura de mediados de los 70-80s<sup>10, 16</sup> y que poseen bajos costos. El uso de baterías completas de carbohidratos que utilizan la base de zimograma y auxanograma, sin embargo la mayoría de estos métodos son tardados y requieren cultivos puros, que no estén contaminados por otras levaduras o bacterias<sup>2, 16,17</sup>

Mientras que en la actualidad, se dispone de técnicas relativamente rápidas para una presunta identificación de las especies de levaduras más frecuentes, por ejemplo: Fluoroplate *Candida* ®<sup>18</sup>, Candiselect®<sup>19</sup>, *Candida* ID 2®<sup>20</sup> y más recientemente el CHROMagar *Candida*®<sup>21,22</sup>, siendo estos métodos enzimáticos.

También se han comercializado diversos métodos de asimilación de nutrientes que simplifican tanto su uso como su interpretación, por lo que son utilizados con mayor frecuencia en los laboratorios para una identificación definitiva de las distintas especies de levaduras, ejemplos de éstos son : API 20C AUX®, Galería ID 32C®, Sistema Vitek® y el Rapid Yeast Identification Panel MicroScan® (WalkAway).<sup>23,24</sup>

Por consiguiente, se requiere evaluar y comparar la efectividad del medio harina de maíz + Tween 80 y del medio CHROMagar *Candida*, ya que son medios útiles en la identificación de levaduras, con respecto al sistema MicroScan (el cual es de alto costo por lo que laboratorios de bajo presupuesto, no tienen acceso a estos equipos), utilizando especies de *Candida* provenientes del Hospital General de México como del Hospital General “Dr. Manuel Gea González”.

#### 4. OBJETIVOS:

- a) Evaluar la efectividad del medio de CHROMagar Candida® y del agar harina de maíz + Tween 80 en la identificación de especies de *Candida* provenientes de muestras biológicas.
- b) Determinar la sensibilidad y especificidad diagnóstica de los medios antes mencionados con respecto a la identificación bioquímica del sistema MicroScan®.
- c) Comparar y evaluar la capacidad de los tres métodos para identificar las distintas especies de *Candida*.

## 5. ANTECEDENTES:

### 5.1 Generalidades del género *Candida*

#### 5.1.1 Características generales

La apariencia microscópica de todas las especies de *Candida* es similar, su reproducción es por blastoconidios (o llamados anteriormente también blastosporas) de formas ovoides, elongadas o esféricas, que dependiendo de cada una de ellas fluctúan entre 2 a 10µm de diámetro, formando gemas de la mitad de su tamaño, algunas veces el blastoconidio permanece unido a la célula madre, y este proceso se repite formando cadenas largas llamadas pseudohifas, sobre todo cuando provienen de medios muy pobres o viejos.<sup>2,14</sup>

El género *Candida* puede formar pseudohifas o hifas verdaderas (dimorfismo); las pseudohifas pueden ser fácilmente diferenciadas de las hifas, porque presentan constricciones en los septos; el septo es el punto de ramificación y las células terminales pueden ser de igual o menor longitud que la célula precedente.<sup>14</sup> Son ureasa-negativa; no forman cápsula; no degradan almidón ni forman pigmentos carotenoides; el inositol no es asimilado<sup>14, 16,25</sup>.

Las levaduras poseen básicamente en su pared celular quitina, glucanas y mananas, cuya estructura le confiere al hongo protección contra el medio externo. La composición química de *C. albicans* está representada por el 20-40% de proteínas y 30-50% de polisacáridos, mientras que la proporción de lípidos es variable. La fracción lipídica va a depender de la cepa, edad del cultivo, condiciones ambientales y del origen de la fuente de carbono<sup>26</sup>.

#### 5.1.2 Taxonomía del género *Candida*

Los cambios recientes en la nomenclatura de estas levaduras están basados en estudios de biología molecular (con base en la secuencia de DNA) por lo que actualmente se encuentran clasificadas de la siguiente forma: Clase- *Ascomycetes*; Subclase- *Hemiascomycetes*; Orden- *Saccharomycetales*; Familia- *Saccharomycetes*; Género- *Candida* (anamorfo); Especies: *C. albicans*

(como la más frecuente y virulenta) y otras especies que se resumen en la Tabla 1.<sup>14, 27</sup>

El género *Candida* comprende más de 200 especies, pero sólo alrededor de 8 son las que presentan más infecciones humanas. Su principal característica es la ausencia de forma teleomórfica (sexual), con excepción de algunas especies, éstas se resumen en la Tabla 2.<sup>3, 27</sup>

### TABLA 1

Especies más frecuentes del género *Candida*<sup>3, 27</sup>

|  |
|--|
| <i>C. albicans</i> , [(Robin), Berkhout, 1923]                                 |
| <i>C. guilliermondii</i> [(Castellani), Langeron y Guerra, 1938]               |
| <i>C. parapsilosis</i> [(Ashford), Langeron y Talice, 1959]                    |
| <i>C. krusei</i> [(Castellani), Berkhout, 1923]                                |
| <i>C. tropicalis</i> [(Castellani), Berkhout, 1923]                            |
| <i>C. kefyr</i> ( <i>pseudotropicalis</i> ) [(Castellani), Basgall, 1931]      |
| <i>C. stellatoidea</i> *[(Jones y Martin), Langeron y Guerra, 1939]            |
| <i>C. glabrata</i> ( <i>Torulopsis</i> ) [Lodder y De Vries, 1938]             |
| <i>C. dubliniensis</i> [Sullivan, Westerneng, Haynes, Bennett y Coleman, 1995] |

\* Al igual que *C. clausenii* y *C. langeronii* son sinónimos de *C. albicans*, en base a la significativa similitud que existe entre su DNA<sup>14</sup>

**TABLA 2**

Ejemplos de especies de *Candida* con su estado anamorfo y teleomorfo.<sup>14</sup>

Adaptado de Anaisse, 2003<sup>27</sup>

| Estado anamorfo                                 | Estado teleomorfo                                     |
|---|---|
| Especies que actúan como patógenos oportunistas |   |
| <i>C. albicans</i>                              | No descrito   |
| <i>C. glabrata</i>                              | No descrito   |
| <i>C. tropicales</i>                            | No descrito   |
| <i>C. krusei</i>                                | <i>Issatchenkia orientalis</i>                        |
| <i>C. guilliermondii</i>                        | <i>Pichia guilliermondii</i> , <i>Pichia ohmeri</i>   |
| <i>C. parapsilosis</i>                          | No descrito   |
| <i>C. lusitaniae</i>                            | <i>Clavispora lusitaniae</i>                          |
| Especies poco frecuentes                        |   |
| <i>C. kefyr</i>                                 | <i>Kluyveromyces marxianus</i> ( <i>K. fragilis</i> ) |
| <i>C. dubliniensis</i>                          | No descrito   |
| <i>C. famata</i>                                | <i>Debaryomyces hansenni</i>                          |
| <i>C. inconspicua</i>                           | No descrito   |
| <i>C. catenulata</i>                            | No descrito   |
| <i>C. lipolytica</i>                            | <i>Yarrowia (Sacchromycopsis) lipolytica</i>          |

### 5.1.3 Características morfológicas y fisiológicas de las especies.

A continuación se describen las principales características morfológicas, bioquímicas (fisiológicas) y la patología asociada de las especies de *Candida* utilizadas en este estudio en la Tabla 3.<sup>2, 16, 17</sup>

**TABLA 3**

Características morfológicas, fisiológicas y tropismo de las especies de *Candida*.<sup>2, 16, 17</sup>

| Especie                | Morfología    |                 |                                  | Auxonograma   |         |          |           |         |          |          |           |        | Zimograma |         |          |           |         |          | Actidione (resistencia) | Patología asociada |   |
|------------------------|---------------|-----------------|----------------------------------|---------------|---------|----------|-----------|---------|----------|----------|-----------|--------|-----------|---------|----------|-----------|---------|----------|-------------------------|--------------------|---|
|                        | Pseudomicelio | clamidoconidios | Filamentación en suero (37°C,3h) | Indispensable |         |          |           |         | Opcional |          |           |        | Glucosa   | Maltosa | Sacarosa | Galactosa | Lactosa | Rafinosa |                         |                    |   |
|                        |               |                 |                                  | Glucosa       | Maltosa | Sacarosa | Galactosa | Lactosa | Rafinosa | Inositol | Celobiosa | Xilosa |           |         |          |           |         |          |                         |                    | Trehalosa                                   |
| <i>C. albicans</i>     | +             | +               | +                                | +             | +       | +        | +         | -       | -        | -        | -         | +      | +         | +       | +        | +/-       | +       | -        | -                       | +                  | Politropismo                                |
| <i>C. tropicalis</i>   | +             | -               | -                                | +             | +       | +        | +         | -       | -        | -        | +         | +      | +         | +       | +        | +         | +       | -        | -                       | -                  | Vaginitis, broncopulmonar, SNC, intestinal. |
| <i>C. parapsilosis</i> | +             | -               | -                                | +             | +       | +        | +         | -       | -        | -        | -         | +      | +         | -       | -        | +         | -       | -        | -                       | -                  | Endocarditis, otitis, onicomicosis.         |
| <i>C. glabrata</i>     | -             | -               | -                                | +             | -       | -        | -         | -       | -        | -        | -         | -      | +         | +       | -        | -         | -       | -        | -                       | -                  | Cualquier cuadro clínico.                   |
| <i>C. krusei</i>       | +             | -               | -                                | +             | -       | -        | -         | -       | -        | -        | -         | -      | -         | +       | -        | -         | -       | -        | -                       | -                  | Onicomicosis, mucosas, endocarditis.        |

Interpretación de símbolos: +, positivo; -, negativo; +/-, casi siempre es positivo. Actidione (cicloheximida)

#### 5.1.4 Aislamiento

Las especies de *Candida* crecen en la mayoría de los medios de cultivo habituales en el laboratorio (gelosa sangre, infusión cerebro corazón, etc.), sin embargo, el medio clásico de aislamiento es el agar dextrosa Sabouraud (con y sin antibióticos: cicloheximida y cloranfenicol), el cual es utilizado de forma universal y que aporta una fuente de nitrógeno y carbono.<sup>3, 17</sup> Otro medio descrito en la literatura es el de agar Biggy Nickerson, el cual es un medio selectivo, pero no diferencial para este género, ya que contiene citrato de bismuto amónico el cual elimina la flora bacteriana y sulfito de sodio, que es reducido a sulfuros, por lo que las colonias crecen de color marrón brillante<sup>2,29</sup>.

#### 5.1.5 Identificación de especies de *Candida*

La identificación de *Candida spp* incluye las características descritas en la Tabla 3. Actualmente se dispone de técnicas relativamente rápidas para una identificación presuntiva de las especies de levaduras más frecuentes, como son los medios enzimáticos, por ej.: Fluoroplate *Candida*®<sup>18</sup>, Candiselect®<sup>19</sup>, *Candida* ID 2®<sup>20</sup> y más recientemente el CHROMagar *Candida*®<sup>21, 22</sup>

Se han desarrollado diversos métodos comerciales de pruebas bioquímicas, por resaltar los más utilizados: API 20C AUX®, Galería ID 32C®, Sistema Vitek® y el Rapid Yeast Identification Panel MicroScan® (WalkAway 96).<sup>23, 24</sup>

#### 5.1.6. Epidemiología

Diversas especies de *Candida*, son parte de la flora normal humana, de las superficies cutáneas, mucosa bucal, intestinos y mucosa vaginal, también se han encontrado en algunos animales homeotérmicos, no se aíslan del suelo ni de los vegetales; los raros aislamientos que se han hecho de estas fuentes se consideran de contaminación fecal.<sup>2,25,30</sup>

Las especies implicadas y el número en que se encuentran varían con las superficies corporales, pero forman una población en equilibrio en el individuo sano<sup>25</sup>

## 5.2 Candidosis

### 5.2.1 Definición

La candidosis es una micosis causada por diversas especies de levaduras oportunistas del género *Candida*, en especial por *C. albicans*. Es una enfermedad de distribución mundial y que presenta una gran variedad de cuadros clínicos, primordialmente mucosas (boca, vagina, etc.), puede llegar a afectar la piel y sus anexos, y de manera excepcional órganos internos y llegar a producir septicemias.  
2, 25,31

### 5.2.2 Sinonimia

Candidiasis, moniliasis, algodoncillo, muguet, dermatocandidiasis, broncomicosis, vulvovaginitis micótica.<sup>2, 25</sup>

### 5.2.3 Epidemiología

#### 5.2.3.1. Distribución geográfica:

La candidosis es una enfermedad que se presenta en todo el mundo (cosmopolita). Los hongos de género *Candida* son ubicuos y utilizan como reservorio al hombre y a muchos animales homeotermos, a los que con frecuencia causan enfermedad.<sup>1-3, 25</sup>

Las diversas especies de *Candida* se pueden encontrar en el tracto gastrointestinal, habitando boca, laringe y faringe. El estómago generalmente no es comenzalizado porque presenta un pH demasiado ácido (1-3), en cambio coloniza intestino delgado y grueso, al igual que mucosas genitales.<sup>1-3, 25</sup>

#### 5.2.3.2 Fuente de infección:



El hombre y otros reservorios, así como objetos contaminados, catéteres, cirugía cardiaca, alimentación parenteral, etc.<sup>2, 14</sup>

#### 5.2.3.3 Vía de entrada:

La infección es generalmente endógena, ya que, varias especies de *Candida* son parte integral de nuestra población de microorganismos; sin embargo, hay ocasiones en que la candidosis se presenta en forma exógena, un ejemplo de esto es la introducción de grandes inóculos de levaduras a través de catéteres, jeringas no estériles, etc.<sup>2, 3, 32</sup>

#### 5.2.3.4 Edad y sexo:

Esta enfermedad se presenta en todas las edades y puede afectar a ambos sexos por igual, aunque son más frecuentes en la mujer por las condiciones anatómicas de la vagina.<sup>1-3, 25, 32, 33</sup>

#### 5.2.3.5 Ocupación:

No es un factor importante en esta enfermedad, a excepción de ciertas localizaciones de candidosis como por ejemplo onicomicosis de las manos, la cual se presenta principalmente en personas que mantienen las manos húmedas (lavanderas, limpiadoras de fruta, etc.).<sup>2, 3, 25, 32, 33</sup>

#### 5.2.4 Factores predisponentes

Existen algunos factores que predisponen al hospedero para que pueda ser parasitado por este tipo de hongos, los principales son:<sup>2, 3, 25, 33</sup>

- A) Factores fisiológicos como es el cambio de pH, sobre todo en vagina y boca, embarazo, prematurez.
- B) Procesos que impiden al hospedero alcanzar su óptimo desarrollo inmunológico o disminuyen sus defensas, por enfermedades crónicas y otros procesos debilitantes tales como diabetes, tuberculosis, absceso hepático amibiano.

- C) Inmunodeficiencias primarias o adquiridas, especialmente aquellas que comprometen la inmunidad celular como leucemia, linfomas, enfermedad de Hodgkin, SIDA etc.
- D) Factores iatrogénicos: Terapia prolongada con sustancias que disminuyen la inmunidad celular como corticoesteroides, suero antilinfocitario. Terapia prolongada con antibióticos de amplio espectro, procedimientos quirúrgicos entre otros.

### 5.2.5 Aspectos clínicos

La candidosis es una de las infecciones más frecuentes y polimórficas que atacan al hombre, su nivel de profundidad o sistematización no depende tanto del agente etiológico en sí, sino del factor predisponente con el que se asocie.<sup>2,3,25</sup>

Las variedades clínicas son las siguientes:

#### 5.2.5.1 CANDIDOSIS MUCOCUTÁNEA

##### a) Candidosis oral o algodoncillo

Las mucosas orales están cubiertas por placas aisladas o confluentes de pseudomembranas de color blanco cremoso o gris, constituidas por pseudohifas y levaduras (blastoconidios). Al desprender estas placas dejan al descubierto una mucosa eritematosa.<sup>2, 3, 25, 32,33</sup>

##### b) Candidosis genital:

###### b.1: Vaginitis candidósica.

Es la más frecuente, recurrente del aparato genital de la mujer, que se presenta en la edad reproductiva, la diabetes, el tratamiento con corticoides y antibióticos de amplio espectro. Generalmente la mucosa se encuentra enrojecida y presenta abundante exudado blanquecino (leucorrea), espeso, grumoso, no fétido. Cuando el cuadro se hace crónico la leucorrea tiende a desaparecer, para quedar sólo el ardor.<sup>2, 3, 25, 32,33</sup>

###### b.2: Balanitis o balanopostitis candidósica

La mayor parte de los casos provienen de relaciones sexuales con la pareja que cursa con vaginitis por *Candida*. Es también frecuente en pacientes diabéticos o inmunosuprimidos. El cuadro clínico característico está constituido por eritema, micropústulas, erosiones y fisuras; hay prurito que se transforma en ardor.<sup>2, 3, 25, 32,33</sup>

#### b.3: Candidosis del tracto gastrointestinal

El esófago y el colon son los órganos más afectados seguidos por el intestino delgado. Puede haber esofagitis (que proviene de una candidosis oral en pacientes con leucemia, diabetes etc.), gastritis (presente en candidosis generalizadas), peritonitis (en pacientes con úlceras o bien por traumatismos quirúrgicos).<sup>2, 3, 25, 32,33</sup>

#### b.4: Candidosis respiratoria

Enfermedad crónica y frecuente en pacientes inmunodeprimidos. Se caracteriza por la presencia de tos constante con expectoración mucosa e incluso hemoptoica.<sup>2, 3, 25, 32,33</sup>

### 5.2.5.2 CANDIDOSIS CUTÁNEA

Se caracteriza por la aparición de placas eritematoescamosas en los pliegues cutáneos (espacios interdigitales, la región crural, las axilas, los surcos submamaros y glúteos). Estas placas pueden ser secas o exudativas, con bordes bien definidos y tener en el centro vesículas o pústulas.<sup>2, 3, 25</sup>

#### a) Onicomycosis por *Candida*

Las uñas de las manos son las que se afectan con mayor frecuencia. Hay eritema alrededor de la uña y edema doloroso (paroniquia). El plato ungueal toma un color que va desde el amarillo hasta el negro pardo; con frecuencia hay desprendimiento de la uña (onicólisis).<sup>2, 3, 25,33</sup>

#### b) Candidosis del área del pañal

Se origina a partir de la dermatitis del área del pañal, su morfología clásica es de francas zonas eritematoescamosas, acompañada de vesículas, pústulas y costras hemáticas. Hay intenso prurito y ardor.<sup>2, 3, 25</sup>

c) Pustulosis cutánea

Es una entidad nueva y rara, que se presenta sobre todo en pacientes adultos jóvenes adictos a las drogas. Se presenta en barba, piel cabelluda y axilas, en las que aparecen lesiones nodulares.<sup>2</sup>

d) Candidosis mucocutánea crónica

Se presenta en pacientes con problemas genéticos e inmunológicos. Compromete mucosas incluyendo boca, vulva, vagina, así como piel, uñas, produce erupción facial y de piel cabelluda así como de otros sitios, que en un principio dan lesiones eritematoescamosas, pero por cronicidad se hacen hiperqueratósicas, vegetantes dando aspecto de “cuernos cutáneos”.<sup>2, 3, 25</sup>

### 5.2.5.3.- CANDIDOSIS SISTÉMICA O PROFUNDA

Este grupo de enfermedades se observa poco y se asocia a factores predisponente muy severos.<sup>2, 3</sup>

a) Tracto urinario

El tracto urinario se ve afectado en forma de placas blanquecinas, y en pocas ocasiones puede llegar hasta el riñón produciendo una pielonefritis.  
<sup>2, 3, 25,33</sup>

b) Endocarditis

Es común en drogadictos heroinómanos, en pacientes con cateterismo crónico y su cuadro clínico y sintomático es similar al de la endocarditis

bacteriana. Se puede presentar esplenomegalia y tiene gran tendencia a la embolia.<sup>2, 3, 25, 32,33</sup>

c) Septicemia (fungemia)

Entidad rara, propia de pacientes severamente inmunosuprimidos, se afecta el estado general, hay fiebre y escalofríos, se confunde fácilmente con septicemia bacteriana.<sup>2, 3, 25, 32,33</sup>

### 5.2.6 Diagnóstico de laboratorio

La toma de muestra es variable, ya que la candidosis se puede presentar en todas las partes del cuerpo, pero principalmente se utilizan los exudados, escamas, esputo, orina, sangre, etc.<sup>2, 10, 16, 17</sup>

- A. EXAMEN DIRECTO: La observación al microscopio se realiza con los exámenes directos y tinciones, en la que se presentaran pseudohifas y/o blastoconidios. Con excepción de *C. glabrata*, que sólo presenta blastoconidios.<sup>2, 10, 16, 17</sup>
- B. CULTIVOS EN: Sabouraud, Biggy, BHI. CHROMagar Candida®. Identificación de especies mediante pruebas bioquímicas y fisiológicas las cuales se resumen en la Tabla 3.<sup>2, 16, 17</sup>
- C. PRUEBAS INMUNOLÓGICAS: IDR (Candidina). Sólo mide Inmunidad celular (IC).<sup>2, 16, 17</sup>

### 5.2.7 Tratamiento

Dependerá del tipo de candidosis y del factor predisponente al que esté ligado, por lo que existen tratamientos tópicos y sistémicos.<sup>2, 8,15</sup>

Dentro de los primeros, se utiliza el bicarbonato de sodio, solución ácida como el vinagre (corrigen el pH), nistatina, azólicos (clotrimazol, bifonazol, miconazol, etc.), óvulos, cremas vaginales de derivados azólicos. Mientras que en el tratamiento sistémico se utiliza el ketoconazol, itraconazol, fluconazol y para casos graves la anfotericina B, caspofungina, voriconazol entre otros.<sup>2, 8,15</sup>

### 5.3 Agar harina de maíz+ Tween 80 al 1%

Este medio, es utilizado como una prueba fenotípica convencional útil para la identificación de levaduras<sup>10, 16</sup>. Las pruebas fenotípicas son una herramienta que nos ayudan a identificar las especies de *Candida*, en especial *C. albicans*, de una manera fácil y sencilla; una característica importante que permite diferenciar a esta de otras especies, es su capacidad de producir clamidoconidios. Generalmente la formación de estas estructuras se realiza en medios de cultivo sólidos, pobres en nutrientes, para inducir en esta especie la formación de pseudohifas e hifas.<sup>2, 10,34</sup>

#### 5.3.1 Morfología en agar harina de maíz + Tween 80 al 1%

Tradicionalmente los microbiólogos han usado este medio para la detección de clamidoconidios producidas por *C. albicans*. Actualmente, el uso de la morfología en agar harina de maíz se ha ampliado hasta incluir una identificación presuntiva de especies de *Candida* comúnmente encontradas en base a aspectos morfológicos microscópicos y la diferenciación de los géneros *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, *Geotrichum* y *Trichosporon*.<sup>10, 16, 32,34</sup>

La Tabla 4 muestra las principales características morfológicas, que se ven en el medio de agar harina de maíz + Tween 80 al 1%, para las especies de *Candida* utilizadas en este estudio.<sup>10, 16, 32</sup>

**TABLA 4**

Morfología de diversas especies de *Candida* en agar harina de maíz + Tween 80 al 1%<sup>10, 16,32</sup>

| ESPECIES DE <i>Candida</i> | ASPECTOS MORFOLOGÍCOS |
|----------------------------|-----------------------|
|----------------------------|-----------------------|

|                        |   |
|------------------------|---|
| <i>C. albicans</i>     | <p>a) Producción de clamidoconidios (8-12µm) de pared gruesa que se encuentran solitarios, y en ocasiones en racimos, habitualmente en los ápices de las pseudohifas.</p> <p>b) Producción de blastoconidios (4-5µm) en forma de densos racimos, dispuestos regularmente a lo largo de las pseudohifas.</p> |
| <i>C. dubliniensis</i> | <p>a) Producción de clamidoconidios de pared gruesa que se encuentran en racimos y en ocasiones solitarios, habitualmente en los ápices de las pseudohifas.</p> <p>b) Producción de blastoconidios en forma de densos racimos, dispuestos regularmente a lo largo de las pseudohifas.</p>                   |
| <i>C. tropicalis</i>   | Producción escasa de blastoconidios (4-7 por 5-11µm), que se encuentran en forma aislada o en pequeños racimos, a lo largo de las pseudohifas, siendo estas últimas más delicadas en comparación con <i>C. albicans</i> .   |
| <i>C. parapsilosis</i> | Formación de colonias satélites como arañas en puntos alejados de la estría que dan como resultado un aspecto arborescente (Gran aumento). Presencia de pseudomicelio fino y grueso, blastoconidios (3-7µm) solitarios.   |
| <i>C. glabrata</i>     | Blastoconidios o pequeñas células esféricas muy compactas sin pseudohifas. (Gran aumento).  |
| <i>C. krusei</i>       | Pseudohifas ramificadas con elongaciones en forma de cruz dando un aspecto de palillos  |

|   |   |
|---|---|
|   | cruzados y presencia de blastoconidios (3-10µm), a lo largo del micelio.  |
| <i>C. kefyra</i><br>(Antes <i>C. pseudotropicalis</i> ) | Abundante pseudomicelio que se encuentra en forma paralela y que simulan troncos en una corriente de agua. Con frecuencia hay blastoconidios dispuestos en racimos. |

#### 5.4 CHROMagar Candida®

Actualmente la identificación de especies de *Candida* se ha facilitado en forma considerable con el desarrollo de medios cromógenos. Uno de los más utilizados es el CHROMagar Candida®, producto registrado por la compañía “CHROMagar Co., Paris. France”, y que contiene componentes cromógenos los cuales no han sido publicados por los laboratorios.<sup>35</sup>

El cromógeno está unido a un sustrato, que permite detectar la actividad enzimática única (específica) presente en alguna de las especies de *Candida*, permitiendo el desarrollo de colonias coloridas<sup>14</sup>. Las características coloniales utilizadas en el presente estudio se indican en la Tabla 5<sup>35-37</sup>.

Este medio también es utilizado como un medio de aislamiento e identificación primaria de levaduras en general, a partir de diferentes especímenes biológicos.<sup>38</sup>

**TABLA 5**

Características coloniales de *Candida* en el medio de CHROMagar Candida®<sup>19,35-</sup>

37

| Especie colonia    | Característica Colonial |
|--------------------|-------------------------|
| <i>C. albicans</i> | Verde claro, lisa       |



|                        |                                   |
|------------------------|-----------------------------------|
| <i>C. dubliniensis</i> | Verde oscuro, lisa                |
| <i>C. tropicalis</i>   | Azul-gris, lisa                   |
| <i>C. parapsilosis</i> | Rosa, blanco-crema,<br>Mucoide    |
| <i>C. glabrata</i>     | Rosa, rosa satinado,<br>Brillante |
| <i>C. krusei</i>       | Rosa pálido, rugosa               |

### 5.5 MicroScan®

Se han desarrollado diversos métodos comerciales que cuentan con diversas pruebas bioquímicas (convencionales), para una identificación rápida de levaduras y especies a fines aisladas en muestras clínicas, un ejemplo de esto, es el MicroScan®. Este equipo cuenta con un panel para la identificación de levaduras, el cual, es una placa de microdilución de 96 pocillos que utiliza 27 sustratos deshidratados. Los sustratos se rehidratan con una suspensión concentrada de la levadura en agua esterilizada. Se obtiene la identificación después de una incubación a 35-37°C durante 4 horas. MicroScan® cuenta con un libro de códigos de biotipos de levaduras el cual lo utiliza para identificar a las mismas y que ha sido generado con la base de datos correspondiente a las pruebas indicadas en el panel. El equipo indicará en forma descendiente de probabilidad hasta obtener un total de 99.9%.<sup>39</sup>

## 6. METODOLOGÍA:

### 6.1 Metodología de tipificación:

Se incorporaron 100 muestras biológicas de pacientes que cursaban con candidosis confirmada mediante exámenes directos con KOH al 10% para búsqueda de pseudohifas y/o blastoconidios y el desarrollo de levaduras en medio de agar dextrosa de Sabouraud; las muestras se obtuvieron de dos hospitales públicos

Las cepas aisladas se resembraron en tubos de Sabouraud agar al igual que las cepas controles (Tabla 12 del Anexo) para su mantenimiento durante todo el proceso de trabajo, el desarrollo de las mismas fue de aproximadamente 2-3 días.

A cada cepa se le realizaron las siguientes pruebas: tinción de Gram, identificación colonial por medio del CHROMagar Candida®, producción de pseudohifas y clamidoconidios en agar harina de maíz + Tween 80 y una identificación bioquímica por medio del sistema MicroScan®. Considerando esta última como técnica de referencia o "*gold standard*".

La metodología para cada medio de cultivo y el equipo que se está evaluando en este estudio, se resumen a continuación.

### 6.2 Medios de cultivo y equipos:

#### 6.2.1 Harina de maíz + Tween 80 al 1% <sup>10,16</sup>

A.-Se siembra la cepa en cajas de Petri por estrías, incubándose a 25°C durante 48-72 horas.

B.-Para hacer la observación se coloca un cubreobjetos sobre la colonia; posteriormente la caja se coloca encima de la platina del microscopio para su investigación microscópica.

Todas las especies oportunistas de *Candida* presentan pseudohifas largas, ramificadas, con cúmulos de blastoconidios; con excepción de *C. glabrata*, que no forma hifas ni pseudohifas. Las características micromorfológicas de las especies más comunes de *Candida* en este medio, se muestran en la Tabla 4.

## 6.2.2 CHROMagar Candida®<sup>21,22</sup>

A.-Se siembra la cepa en estudio por estría, se recomienda que sea por agotamiento para obtener así colonias aisladas.

B.-Se incuban las placas a 28-30 °C durante 48-72h, y se observa la coloración de las colonias. Las características coloniales de este medio, se describen en la Tabla 5.

## 6.2.3 Sistema MicroScan®<sup>39</sup>

### 6.2.3.1. Preparación de los paneles

A.-Sacar el panel del refrigerador revisando que no se encuentre rota su envoltura y/o no contenga desecante.

B.-Abrir la bolsa del panel, sacarlo y dejar que alcance la temperatura ambiente antes de la rehidratación.

### 6.2.3.2. Preparación del inóculo

A.-Tomar con una asa bacteriológica estéril las colonias de la levadura a identificar, las cuales deben tener un desarrollo de 48 horas a 30°C en medio de agar dextrosa de Sabouraud.

B.-Resuspender en 3ml de agua desionizada estéril. Cada suspensión debe compararse y ser equivalente al patrón de turbidez de levaduras de MicroScan® o ajustarse al tubo 3 de Mac Farland. Asegurarse que no quede una suspensión menor de esa turbidez.

C.-Mezclar la suspensión hasta que sea homogénea con la ayuda de un vórtex.

### 6.2.3.3 Inoculación del Panel

A.-Rotular en el panel el número de la muestra.

B.-Añadir 50µl de suspensión de levaduras en cada pocillo que contenga sustrato y en los pocillos control.

C.-Una vez que el panel ha sido inoculado, golpear suavemente en cada esquina del panel para conseguir una correcta homogeneización del sustrato.

### 6.2.3.4 Incubación

A.-Apilar los paneles en grupos de 3 a 5 cubriendo la superficie con su tapa respectiva para evitar la evaporación.

B.-Incubar los paneles inoculados de 35-37°C por 4 horas.

#### 6.2.3.5 Lectura de los Paneles

A.-Después de 4 horas de incubación, añadir los reactivos reveladores respectivos a cada prueba bioquímica en el pocillo correspondiente, e interpretar.

### 6.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A los resultados obtenidos se les aplicó la prueba de k (kappa), para evaluar de manera comparativa la sensibilidad, especificidad y valores predictivos (positivo y negativo) del medio CHROMagar Candida® y del agar harina de maíz + Tween 80, ambos con respecto a la identificación bioquímica del sistema MicroScan®.<sup>11, 12</sup>

El cálculo del coeficiente de Kappa <sup>11, 12</sup> implica el uso de una tabla de contingencia de 2X2 de la manera siguiente:

|                                   |   |                                |   |   |
|-----------------------------------|---|--------------------------------|---|---|
|                                   |   | MicroScan<br>(Estándar de oro) |   |   |
|                                   |   | +                              | - |   |
| CHROMagar Candida<br>□            | + | a                              | b | n |
| Agar Harina de maíz +<br>tween 80 | - | c                              | d |   |

En donde:

a = concordancia de positivos entre observadores.

b = no concordancia.

c = no concordancia.

d = concordancia de negativos entre observadores.

n = total de observaciones.

El coeficiente de kappa nos indica si el acuerdo entre observadores (resultados de los medios y equipos) fue más allá del azar, es decir, no fue por casualidad.<sup>11</sup>

La formula de kappa es la siguiente:

$$K = (P_o - P_e) / 1 - P_e$$

De la cual:

$$P_o = (a + d) / n$$

$$P_e = [(a + b)/n]X[(a + c)/n] + [(b + d)/n]X[(c + d)/n]$$

En donde:

$P_o$  = proporción de concordancia observada.

$P_e$  = proporción de concordancia esperada producida por el azar.

K = kappa

El siguiente cuadro indica los criterios de Fleiss <sup>11</sup> para la interpretación del coeficiente de kappa.

**Cuadro 1**

| Coeficiente de kappa | Interpretación   |
|----------------------|--|
| 0.75 – 1.00          | Muy buena concordancia, no debida al azar.                     |
| 0.50 – 0.74          | Buena, adecuada concordancia más grande que la debida al azar. |
| 0.00 – 0.49          | Inadecuada, puede ser debida al azar.                          |
| < 0                  | Menos que la debida al azar                                    |

Para obtener los valores de sensibilidad, especificidad y valores predictivos (positivos y negativos), se llena nuevamente una tabla de contingencia de 2X2, sólo que ahora el significado de las casillas es diferente:

|                       |   |                                |       |         |  |
|-----------------------|---|--------------------------------|-------|---------|--|
|                       |   | MicroScan<br>(Estándar de oro) |       |         |  |
|                       |   | +                              | -     |         |  |
| Prueba<br>diagnóstica | + | a                              | b     | a + b   |  |
|                       | - | c                              | d     | c + d   |  |
|                       |   | a + c                          | b + d | a+b+c+d |  |

En donde:

a = verdaderos positivos

b = falsos positivos

c = falsos negativos

d = verdaderos negativos

Prueba diagnóstica = CHROMagar Candida® o agar  
harina de maíz + Tween 80.

Los cálculos son:

$$S = a / (a + c)$$

$$E = d / (b + d)$$

$$VPP = a / (a + b)$$

$$VPN = d / (c + d)$$

En donde:

S = Sensibilidad

E = Especificidad

VPP = Valor predictivo positivo

VPN = Valor predictivo negativo

Todos los índices están expresados como proporciones por lo que son convertidos a porcentajes al multiplicarse el resultado por 100.

Cabe señalar que:

Sensibilidad (S): Capacidad de la prueba para identificar correctamente, la presencia de la enfermedad, que en este caso, será a las especies de *Candida* en

estudio. Expresada en otros términos, es la probabilidad de que la prueba resulte positiva para identificar correctamente a una determinada especie.

Especificidad (E): Capacidad de la prueba para identificar correctamente la ausencia de la enfermedad, es decir la probabilidad de que la prueba resulte negativa cuando el individuo no presente el padecimiento (sana).

Valor predictivo positivo (VPP): Probabilidad de que siendo la prueba positiva, el sujeto realmente tenga la enfermedad.

Valor predictivo negativo (VPN): Probabilidad de que siendo la prueba negativa el sujeto no presente el padecimiento.

## 7. RESULTADOS:

Los resultados que se obtuvieron en la identificación de las especies de *Candida* por los tres métodos en estudio, se resumen en la tabla 6. Se encontraron varias mezclas de levaduras en diferentes muestras biológicas, estas se indican por el número de cepa más una letra del abecedario. El total de cepas aisladas fue 111 de 100 muestras biológicas obtenidas de pacientes tanto del Hospital General de México como del Hospital General “Dr. Manuel Gea González” más 5 cepas control provenientes del cepario del Instituto Nacional de Pediatría, dando un total de 116 cepas.

Los resultados para evaluar la confiabilidad del CHROMagar Candida® y del agar harina de maíz + Tween 80 para las especies más representativas de *Candida* se resumen en las tablas 7, 8, 9 y 10. Cada tabla contiene dos columnas que muestran una relación entre el sistema MicroScan® vs. CHROMagar Candida® y MicroScan® vs. harina de maíz + Tween 80, estos datos se obtuvieron de una tabla de contingencias de 2X2 con base en los resultados generales de la tabla 6. Y por último se presenta la tabla número 11 que contiene la evaluación comparativa de sensibilidad, especificidad, valor predictivo (positivo y negativo) y el coeficiente de kappa para cada especie de *Candida* estudiada por los tres métodos, donde se somborean los resultados más representativos.

**TABLA 6**

Resultados comparativos de la identificación de cepas de *Candida spp* por medio del sistema de MicroScan®, CHROMagar Candida® y agar harina de maíz + Tween 80

| Cepa | MicroScan | CHROMagar Candida® | Harina de maíz + Tween 80 |
|------|-----------|--------------------|---------------------------|
|      |           |                    |                           |



|    |                          |  |                        |
|----|--------------------------|--|------------------------|
| 1  | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 2  | <i>C. parapsilosis</i>   | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 3  | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 4  | No identificada          | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 5  | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 6  | <i>C. tropicalis</i>     | Azul-gris. ( <i>C. tropicalis</i> )        | <i>C. tropicalis</i>   |
| 7  | <i>C. catenulata</i>     | Grises-moradas (inespecíficas)             | Inespecífica           |
| 8  | <i>C. parapsilosis</i>   | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 9  | <i>K. lactis</i>         | Azules ( <i>C. tropicalis</i> )            | <i>C. tropicalis</i>   |
| 10 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 11 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 12 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 13 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | Sin desarrollo         |
| 14 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 15 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 16 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 17 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 18 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 19 | <i>C. parapsilosis</i>   | Blanco-violeta. ( <i>C. parapsilosis</i> ) | <i>C. parapsilosis</i> |
| 20 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 21 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 22 | <i>C. glabrata</i>       | Blanco-violeta. ( <i>C. parapsilosis</i> ) | <i>C. glabrata</i>     |
| 23 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 24 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 25 | <i>C. parapsilosis</i>   | Lilas brillantes ( <i>C. glabrata</i> )    | Sin desarrollo         |
| 26 | <i>C. parapsilosis</i>   | Lilas brillantes ( <i>C. glabrata</i> )    | Sin desarrollo         |
| 27 | <i>C. tropicalis</i>     | Azul-gris. ( <i>C. tropicalis</i> )        | <i>C. tropicalis</i>   |
| 28 | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )          | <i>C. albicans</i>     |
| 29 | <i>C. guilliermondii</i> | Violeta-grisácea (inespecífica)            | Sin desarrollo         |

|      |                        |  |                        |
|------|------------------------|--|------------------------|
| 30   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 31   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 32   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 33   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 34   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 35   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 36   | <i>C. parapsilosis</i> | Blanco-violeta. ( <i>C. parapsilosis</i> )   | <i>C. parapsilosis</i> |
| 37   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 38   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 39   | <i>C. glabrata</i>     | Crema-rosado ( <i>C. parapsilosis</i> o <i>C. glabrata</i> )                         | <i>C. glabrata</i>     |
| 40   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 41   | No identificada        | Lilas (inespecíficas)  | Sin desarrollo         |
| 42   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 43   | <i>C. tropicalis</i>   | Azul-gris. ( <i>C. tropicalis</i> )  | <i>C. tropicalis</i>   |
| 44   | <i>C. tropicalis</i>   | Azul-gris. ( <i>C. tropicalis</i> )  | <i>C. tropicalis</i>   |
| 45   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 46   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 47   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 48   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | Sin desarrollo         |
| 49   | <i>C. tropicalis</i>   | Azul-gris. ( <i>C. tropicalis</i> )  | <i>C. tropicalis</i>   |
| 50 A | <i>C. glabrata</i>     | Lilas ( <i>C. glabrata</i> )   | <i>C. glabrata</i>     |
| 50 B | <i>C. krusei</i>       | Rosa pálido-lilas ( <i>C. krusei</i> o <i>C. glabrata</i> o <i>C. parapsilosis</i> ) | Sin desarrollo         |
| 51   | <i>C. glabrata</i>     | Gris-violeta (inespecífica)  | <i>C. glabrata</i>     |
| 52   | <i>C. glabrata</i>     | Gris-violeta (inespecífica)  | <i>C. glabrata</i>     |
| 53   | <i>C. albicans</i>     | Azul-gris. ( <i>C. tropicalis</i> )  | <i>C. tropicalis</i>   |
| 54   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |
| 55   | <i>C. tropicalis</i>   | Azul-gris. ( <i>C. tropicalis</i> )  | <i>C. tropicalis</i>   |
| 56   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )  | <i>C. albicans</i>     |

|      |                        |   |                        |
|------|------------------------|---|------------------------|
| 57   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | <i>C. albicans</i>     |
| 58   | No identificada        | Lilas-rosas ( <i>C. glabrata</i> o <i>C. parapsilosis</i> )         | <i>C. glabrata</i>     |
| 59   | No identificada        | Lilas ( <i>C. glabrata</i> o <i>C. parapsilosis</i> )               | <i>C. glabrata</i>     |
| 60   | <i>C. parapsilosis</i> | Lilas ( <i>C. glabrata</i> o <i>C. parapsilosis</i> )               | <i>C. parapsilosis</i> |
| 61 A | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | <i>C. albicans</i>     |
| 61 B | No identificada        | Lilas ( <i>C. glabrata</i> o <i>C. parapsilosis</i> )               | <i>C. glabrata</i>     |
| 62   | No identificada        | Azul-gris. ( <i>C. tropicalis</i> )                                 | <i>C. tropicalis</i>   |
| 63 A | <i>Geotrichum sp</i>   | Lilas ( <i>C. glabrata</i> o <i>C. parapsilosis</i> )               | <i>C. glabrata</i>     |
| 63 B | <i>C. catenulata</i>   | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | <i>C. albicans</i>     |
| 63 C | <i>C. tropicalis</i>   | Azul-gris. ( <i>C. tropicalis</i> )                                 | <i>C. tropicalis</i>   |
| 64   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | <i>C. albicans</i>     |
| 65 A | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | <i>C. albicans</i>     |
| 65 B | No identificada        | Lilas ( <i>C. glabrata</i> o <i>C. parapsilosis</i> )               | <i>C. glabrata</i>     |
| 66   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | Sin desarrollo         |
| 67   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | Sin desarrollo         |
| 68 A | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | Sin desarrollo         |
| 68 B | No identificada        | Lilas ( <i>C. glabrata</i> o <i>C. parapsilosis</i> )               | <i>C. glabrata</i>     |
| 69   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | Sin desarrollo         |
| 70   | <i>C. parapsilosis</i> | Lilas ( <i>C. glabrata</i> o <i>C. parapsilosis</i> )               | <i>C. parapsilosis</i> |
| 71   | <i>Prototheca sp</i>   | Lilas brillantes ( <i>C. glabrata</i> )                             | <i>C. glabrata</i>     |
| 72   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | <i>C. albicans</i>     |
| 73   | <i>C. inconspicua</i>  | Lilas-opacas ( <i>C. krusei</i> o probable <i>C. parapsilosis</i> ) | Inespecífica           |
| 74   | <i>C. parapsilosis</i> | Lilas ( <i>C. glabrata</i> o <i>C. parapsilosis</i> )               | <i>C. parapsilosis</i> |
| 75   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | <i>C. albicans</i>     |
| 76   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | <i>C. albicans</i>     |
| 77   | No identificada        | Lilas-grises (inespecíficas)  | Inespecífica           |
| 78   | <i>C. parapsilosis</i> | Lilas ( <i>C. glabrata</i> o <i>C. parapsilosis</i> )               | <i>C. parapsilosis</i> |
| 79   | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | <i>C. albicans</i>     |
| 80 A | <i>C. albicans</i>     | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )                                   | <i>C. albicans</i>     |

|      |                          |   |                        |
|------|--------------------------|---|------------------------|
| 80 B | <i>C. tropicalis</i>     | Azul-gris. ( <i>C. tropicalis</i> )       | <i>C. tropicalis</i>   |
| 81   | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 82 A | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 82 B | <i>C. tropicalis</i>     | Azul-gris. ( <i>C. tropicalis</i> )       | <i>C. tropicalis</i>   |
| 83   | <i>C. guilliermondii</i> | Lilas brillantes( <i>C. glabrata</i> )    | <i>C. glabrata</i>     |
| 84   | <i>C. parapsilosis</i>   | Lilas brillantes( <i>C. glabrata</i> )    | <i>C. parapsilosis</i> |
| 85 A | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 85 B | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 86   | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 87 A | <i>C. parapsilosis</i>   | Lilas opacas ( <i>C. parapsilosis</i> )   | <i>C. parapsilosis</i> |
| 87 B | <i>C. parapsilosis</i>   | Lilas brillantes( <i>C. glabrata</i> )    | <i>C. parapsilosis</i> |
| 88   | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 89   | <i>C. parapsilosis</i>   | Lilas brillantes( <i>C. glabrata</i> )    | <i>C. parapsilosis</i> |
| 90   | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 91   | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 92   | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 93   | <i>C. glabrata</i>       | Lilas brillantes( <i>C. glabrata</i> )    | <i>C. glabrata</i>     |
| 94   | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 95   | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 96   | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 97 A | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 97 B | No identificada          | Blancas (inespecíficas)                   | Sin desarrollo         |
| 98   | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 99   | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 100  | <i>C. glabrata</i>       | Lilas brillantes ( <i>C. glabrata</i> )   | <i>C. glabrata</i>     |
| 101  | <i>C. albicans</i>       | Verde claro ( <i>C.albicans</i> )         | <i>C. albicans</i>     |
| 102  | <i>C. tropicalis</i>     | Azul-gris ( <i>C. tropicalis</i> )        | <i>C. tropicalis</i>   |
| 103  | <i>C. parapsilosis</i>   | Blanco-violeta ( <i>C. parapsilosis</i> ) | <i>C. parapsilosis</i> |
| 104  | <i>Prototheca sp</i>     | Lilas brillantes ( <i>C. glabrata</i> )   | <i>C. glabrata</i>     |

|     |                  |   |                  |
|-----|------------------|---|------------------|
| 105 | <i>C. krusei</i> | Lilas-rosas-opacas ( <i>C. krusei</i> ) | <i>C. krusei</i> |
|-----|------------------|---|------------------|

De acuerdo a la micromorfología del agar harina de maíz + Tween 80 tenemos a: *C. albicans* que forman pseudohifas, blastoconidios y clamidoconidios solitarios o en racimos (figura 1, 2 y 3); *C. tropicalis*, formando blastoconidios escasos y aislados con pseudohifas largas (figura 4 y 5); *C. parapsilosis*, formando pseudomicelio y colonias satélites en puntos alejados de la estría (figura 6); *C. glabrata*, sin producción de pseudohifas (figura 7); *C. krusei*, formando pseudohifas con elongaciones en forma de cruz dando un aspecto de palillos cruzados y presencia de blastoconidios (figura 8).

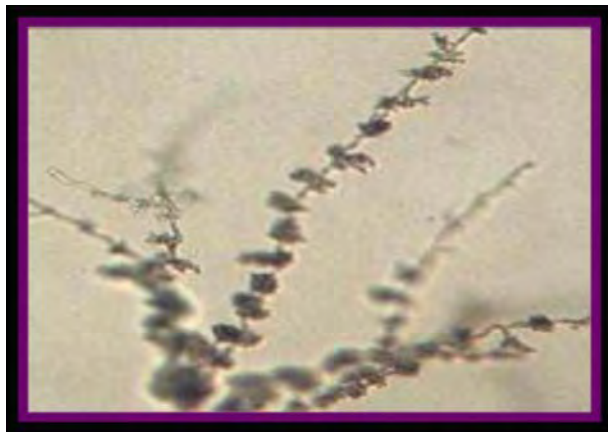


Figura1. Crecimiento de *C. albicans* que muestra un aspecto de araña y racimos compactos de blastoconidios, dispuestos a lo largo de las pseudohifas. 10 X.



Figura 2. Producción de clamidoconidios terminales de *C. albicans*. 10 X.

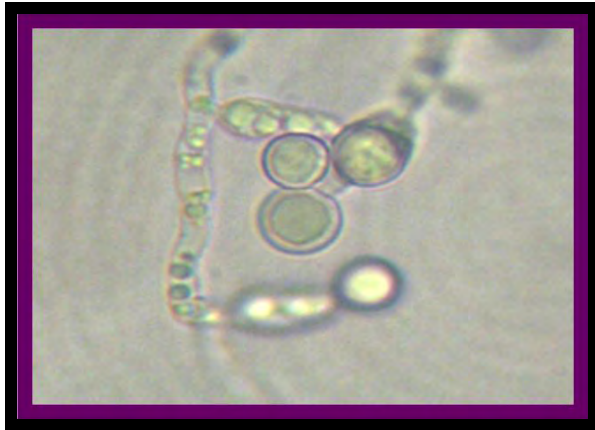


Figura 3. Clamidoconidios terminales y en racimos. 40 X.

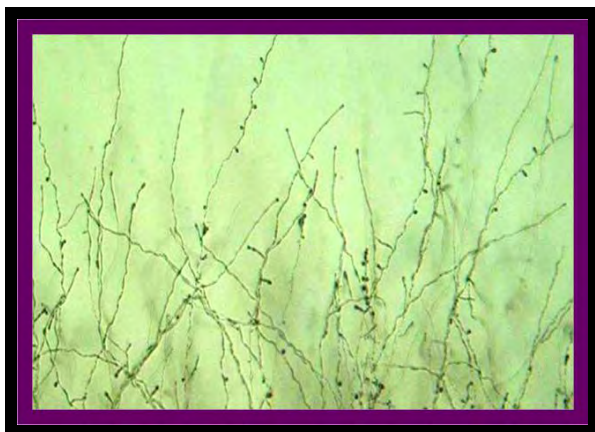


Figura 4. Producción de pseudohifas largas con escasos blastoconidios de *C. tropicalis*. 10 X.

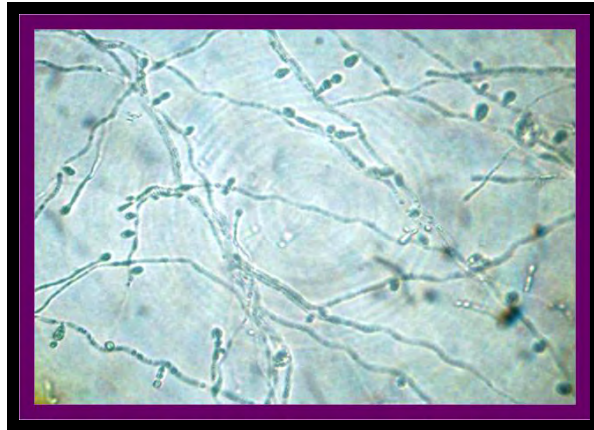


Figura 5. Producción escasa de blastoconidios, irregularmente dispuestos a lo largo de las pseudohifas de *C. tropicalis*. 40 X.



Figura 6. Aspecto de *C. parapsilosis* que ilustra las colonias satélites como arañas en puntos alejados de las estrías, dando un aspecto arborescente. 10X.

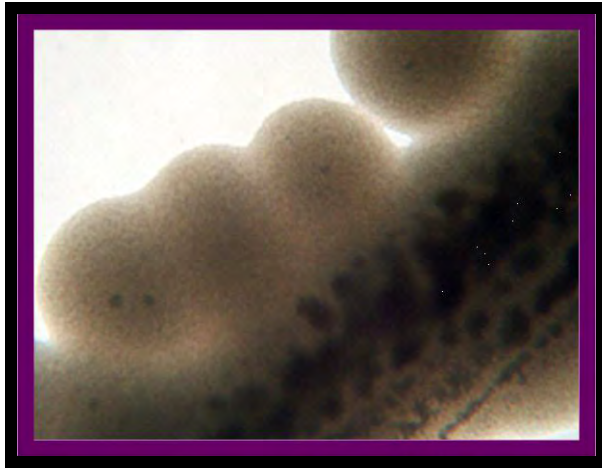


Figura 7. Producción de pequeñas células sin pseudohifas de *C. glabrata*. 10 X.

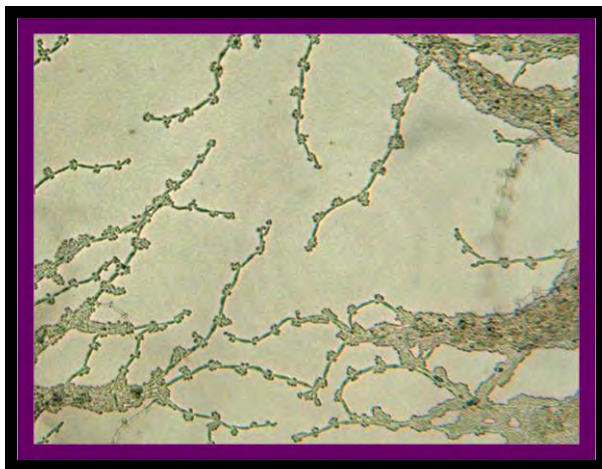


Figura 8. Formación de pseudohifas con elongaciones en forma de cruz dando un aspecto de palillos cruzados y presencia de blastoconidios de *C. krusei*. 40X





Figura 9. Morfología colonial de *C. albicans* en CHROMagar Candida®. Se puede observar colonias verde claro y lisas a las 48h de incubación.



Figura 10. Morfología colonial de *C. parapsilosis* en el medio de CHROMagar Candida®. Se puede observar colonias lilas-crema después de las 48h de incubación.

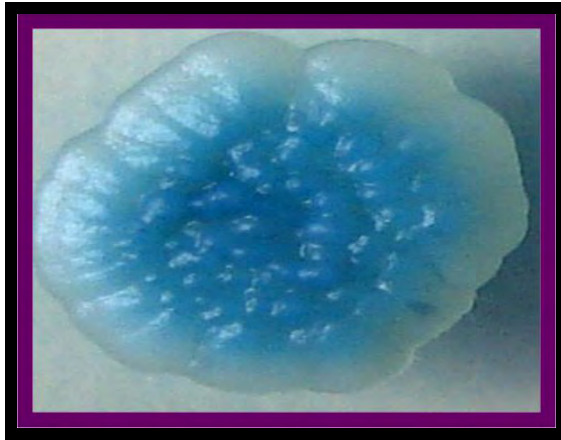


Figura 11. Morfología colonial de *C. tropicalis* en el medio de CHROMagar Candida®. Se puede observar colonias azul-grises a las 48h de incubación.



Figura 12. Morfología colonial de *C. glabrata* en el medio de CHROMagar Candida®. Se puede observar colonias lilas brillantes a las 48h de incubación



Figura 13. Morfología colonial de *C. krusei* en el medio de CHROMagar Candida®. Se puede observar colonias lilas opacas a las 48h de incubación

**TABLA 7**

Resultados de la evaluación de concordancia entre el sistema MicroScan® vs. CHROMagar Candida® y MicroScan® vs. harina de maíz + Tween 80 para las especies de *C. albicans*.

| Cepa | MicroScan® /<br>CHROMagar<br>Candida® | MicroScan® /<br>harina de maíz<br>+ Tween 80 | Cepa | MicroScan® /<br>CHROMagar<br>Candida® | MicroScan® /<br>harina de maíz<br>+ Tween 80 |
|------|---------------------------------------|--|------|---------------------------------------|--|
| 1    | a                                     | a  | 58   | d                                     | d  |
| 2    | b                                     | b  | 59   | d                                     | d  |
| 3    | a                                     | a  | 60   | d                                     | d  |
| 4    | b                                     | b  | 61 A | a                                     | a  |
| 5    | a                                     | a  | 61 B | d                                     | d  |
| 6    | d                                     | d  | 62   | d                                     | d  |
| 7    | d                                     | d  | 63 A | d                                     | d  |
| 8    | b                                     | b  | 63 B | b                                     | b  |
| 9    | d                                     | d  | 63 C | d                                     | d  |
| 10   | a                                     | a  | 64   | a                                     | a  |
| 11   | a                                     | a  | 65 A | a                                     | a  |
| 12   | a                                     | a  | 65 B | d                                     | d  |
| 13   | a                                     | c  | 66   | a                                     | c  |
| 14   | a                                     | a  | 67   | a                                     | c  |
| 15   | a                                     | a  | 68 A | a                                     | c  |
| 16   | a                                     | a  | 68 B | d                                     | d  |
| 17   | a                                     | a  | 69   | a                                     | c  |
| 18   | a                                     | a  | 70   | d                                     | d  |
| 19   | d                                     | d  | 71   | d                                     | d  |

|    |   |   |      |   |   |
|----|---|---|------|---|---|
| 20 | a | a | 72   | a | a |
| 21 | a | a | 73   | d | d |
| 22 | d | d | 74   | d | d |
| 23 | a | a | 75   | a | a |
| 24 | a | a | 76   | a | a |
| 25 | d | d | 77   | d | d |
| 26 | d | d | 78   | d | d |
| 27 | d | d | 79   | a | a |
| 28 | a | a | 80 A | a | a |
| 29 | d | d | 80 B | d | d |
| 30 | a | a | 81   | a | a |
| 31 | a | a | 82 A | a | a |
| 32 | a | a | 82 B | d | d |
| 33 | a | a | 83   | d | d |
| 34 | a | a | 84   | d | d |
| 35 | a | a | 85 A | a | a |
| 36 | d | d | 85 B | a | a |
| 37 | a | a | 86   | a | a |
| 38 | a | a | 87 A | d | d |
| 39 | d | d | 87 B | d | d |
| 40 | a | a | 88   | a | a |
| 41 | d | d | 89   | d | d |
| 42 | a | a | 90   | a | a |
| 43 | d | d | 91   | a | a |
| 44 | d | d | 92   | a | a |
| 45 | a | a | 93   | b | d |
| 46 | a | a | 94   | a | a |
| 47 | a | a | 95   | a | a |
| 48 | a | c | 96   | a | a |
| 49 | d | d | 97 A | a | a |

|      |   |   |      |   |   |
|------|---|---|------|---|---|
| 50 A | d | d | 97 B | d | d |
| 50 B | d | d | 98   | a | a |
| 51   | d | d | 99   | a | a |
| 52   | d | d | 100  | d | d |
| 53   | c | c | 101  | a | a |
| 54   | a | a | 102  | d | d |
| 55   | d | d | 103  | d | d |
| 56   | a | a | 104  | d | d |
| 57   | a | a | 105  | d | d |

a, verdaderos positivos; b, falsos positivos; c, falsos negativos; d, verdaderos negativos.

**TABLA 8**

Resultados de la evaluación de concordancia entre el sistema MicroScan® vs. CHROMagar Candida® y MicroScan® vs. harina de maíz + Tween 80 para las especies de *C. tropicalis*.

| Cepa | MicroScan® /<br>CHROMagar<br>Candida® | MicroScan® /<br>harina de maíz<br>+ Tween 80 | Cepa | MicroScan® /<br>CHROMagar<br>Candida® | MicroScan® /<br>harina de maíz<br>+ Tween 80 |
|------|---------------------------------------|--|------|---------------------------------------|--|
| 1    | d                                     | d  | 58   | d                                     | d  |
| 2    | d                                     | d  | 59   | c                                     | c  |
| 3    | d                                     | d  | 60   | d                                     | d  |
| 4    | d                                     | d  | 61 A | d                                     | d  |
| 5    | d                                     | d  | 61 B | c                                     | c  |
| 6    | a                                     | a  | 62   | a                                     | a  |
| 7    | d                                     | d  | 63 A | d                                     | d  |
| 8    | d                                     | d  | 63 B | d                                     | d  |

|    |   |   |      |   |   |
|----|---|---|------|---|---|
| 9  | b | b | 63 C | a | a |
| 10 | d | d | 64   | d | d |
| 11 | d | d | 65 A | d | d |
| 12 | d | d | 65 B | c | c |
| 13 | d | d | 66   | d | d |
| 14 | d | d | 67   | d | d |
| 15 | d | d | 68 A | d | d |
| 16 | d | d | 68 B | d | d |
| 17 | d | d | 69   | d | d |
| 18 | d | d | 70   | d | d |
| 19 | d | d | 71   | d | d |
| 20 | d | d | 72   | d | d |
| 21 | d | d | 73   | d | d |
| 22 | d | d | 74   | d | d |
| 23 | d | d | 75   | d | d |
| 24 | d | d | 76   | d | d |
| 25 | d | d | 77   | d | d |
| 26 | d | d | 78   | d | d |
| 27 | a | a | 79   | d | d |
| 28 | d | d | 80 A | d | d |
| 29 | d | d | 80 B | a | a |
| 30 | d | d | 81   | d | d |
| 31 | d | d | 82 A | d | d |
| 32 | d | d | 82 B | a | a |
| 33 | d | d | 83   | d | d |
| 34 | d | d | 84   | d | d |
| 35 | d | d | 85 A | d | d |
| 36 | d | d | 85 B | d | d |
| 37 | d | d | 86   | d | d |
| 38 | d | d | 87 A | d | d |

|      |   |   |      |   |   |
|------|---|---|------|---|---|
| 39   | d | d | 87 B | d | d |
| 40   | d | d | 88   | d | d |
| 41   | d | d | 89   | d | d |
| 42   | d | d | 90   | d | d |
| 43   | a | a | 91   | d | d |
| 44   | a | a | 92   | d | d |
| 45   | d | d | 93   | d | d |
| 46   | d | d | 94   | d | d |
| 47   | d | d | 95   | d | d |
| 48   | d | d | 96   | d | d |
| 49   | a | a | 97 A | d | d |
| 50 A | d | d | 97 B | d | d |
| 50 B | d | d | 98   | d | d |
| 51   | d | d | 99   | d | d |
| 52   | d | d | 100  | d | d |
| 53   | b | b | 101  | d | d |
| 54   | d | d | 102  | a | a |
| 55   | a | a | 103  | d | d |
| 56   | d | d | 104  | d | d |
| 57   | d | d | 105  | d | d |

a, verdaderos positivos; b, falsos positivos; c, falsos negativos; d, verdaderos negativos

**TABLA 9**

Resultados de la evaluación de concordancia entre el sistema MicroScan® vs. CHROMagar Candida® y MicroScan® vs. harina de maíz + Tween 80 para las especies de *C. parapsilosis*

| Cepa | MicroScan® /<br>CHROMagar | MicroScan® /<br>harina de maíz | Cepa | MicroScan® /<br>CHROMagar | MicroScan® /<br>harina de maíz |
|------|---------------------------|--------------------------------|------|---------------------------|--------------------------------|
|------|---------------------------|--------------------------------|------|---------------------------|--------------------------------|

|    | Candida® | + Tween 80 |      | Candida® | + Tween 80 |
|----|----------|------------|------|----------|------------|
| 1  | d        | d          | 58   | b        | d          |
| 2  | c        | c          | 59   | b        | d          |
| 3  | d        | d          | 60   | a        | a          |
| 4  | d        | d          | 61 A | d        | d          |
| 5  | d        | d          | 61 B | b        | d          |
| 6  | d        | d          | 62   | d        | d          |
| 7  | d        | d          | 63 A | b        | d          |
| 8  | c        | c          | 63 B | d        | d          |
| 9  | d        | d          | 63 C | d        | d          |
| 10 | d        | d          | 64   | d        | d          |
| 11 | d        | d          | 65 A | d        | d          |
| 12 | d        | d          | 65 B | b        | d          |
| 13 | d        | d          | 66   | d        | d          |
| 14 | d        | d          | 67   | d        | d          |
| 15 | d        | d          | 68 A | d        | d          |
| 16 | d        | d          | 68 B | b        | d          |
| 17 | d        | d          | 69   | d        | d          |
| 18 | d        | d          | 70   | a        | a          |
| 19 | a        | a          | 71   | d        | d          |
| 20 | d        | d          | 72   | d        | d          |
| 21 | d        | d          | 73   | b        | d          |
| 22 | b        | d          | 74   | a        | a          |
| 23 | d        | d          | 75   | d        | d          |
| 24 | d        | d          | 76   | d        | d          |
| 25 | c        | c          | 77   | b        | d          |
| 26 | c        | c          | 78   | a        | a          |
| 27 | d        | d          | 79   | d        | d          |
| 28 | d        | d          | 80 A | d        | d          |
| 29 | d        | d          | 80 B | d        | d          |



|      |   |   |      |   |   |
|------|---|---|------|---|---|
| 30   | d | d | 81   | d | d |
| 31   | d | d | 82 A | d | d |
| 32   | d | d | 82 B | d | d |
| 33   | d | d | 83   | d | d |
| 34   | d | d | 84   | c | a |
| 35   | d | d | 85 A | d | d |
| 36   | a | a | 85 B | d | d |
| 37   | d | d | 86   | d | d |
| 38   | d | d | 87 A | a | a |
| 39   | b | d | 87 B | c | a |
| 40   | d | d | 88   | d | d |
| 41   | b | d | 89   | c | a |
| 42   | d | d | 90   | d | d |
| 43   | d | d | 91   | d | d |
| 44   | d | d | 92   | d | d |
| 45   | d | d | 93   | d | d |
| 46   | d | d | 94   | d | d |
| 47   | d | d | 95   | d | d |
| 48   | d | d | 96   | d | d |
| 49   | d | d | 97 A | d | d |
| 50 A | d | d | 97 B | b | d |
| 50 B | b | d | 98   | d | d |
| 51   | d | d | 99   | d | d |
| 52   | d | d | 100  | d | d |
| 53   | d | d | 101  | d | d |
| 54   | d | d | 102  | d | d |
| 55   | d | d | 103  | a | a |
| 56   | d | d | 104  | d | d |
| 57   | d | d | 105  | d | d |

a, verdaderos positivos; b, falsos positivos; c, falsos negativos; d, verdaderos negativos

**TABLA 10**

Resultados de la evaluación de concordancia entre el sistema MicroScan® vs. CHROMagar Candida® y MicroScan® vs. harina de maíz + Tween 80 para las especies de *C. glabrata*.

| Cepa | MicroScan® /<br>CHROMagar<br>Candida® | MicroScan® /<br>harina de maíz<br>+ Tween 80 | Cepa | MicroScan® /<br>CHROMagar<br>Candida® | MicroScan® /<br>harina de maíz<br>+ Tween 80 |
|------|---------------------------------------|--|------|---------------------------------------|--|
| 1    | d                                     | d  | 58   | b                                     | b  |
| 2    | d                                     | d  | 59   | b                                     | b  |
| 3    | d                                     | d  | 60   | b                                     | d  |
| 4    | d                                     | d  | 61 A | d                                     | d  |
| 5    | d                                     | d  | 61 B | b                                     | b  |
| 6    | d                                     | d  | 62   | d                                     | d  |
| 7    | d                                     | d  | 63 A | b                                     | b  |
| 8    | d                                     | d  | 63 B | d                                     | d  |
| 9    | d                                     | d  | 63 C | d                                     | d  |
| 10   | d                                     | d  | 64   | d                                     | d  |
| 11   | d                                     | d  | 65 A | d                                     | d  |
| 12   | d                                     | d  | 65 B | b                                     | b  |
| 13   | d                                     | d  | 66   | d                                     | d  |
| 14   | d                                     | d  | 67   | d                                     | d  |
| 15   | d                                     | d  | 68 A | d                                     | d  |
| 16   | d                                     | d  | 68 B | b                                     | b  |
| 17   | d                                     | d  | 69   | d                                     | d  |
| 18   | d                                     | d  | 70   | b                                     | d  |
| 19   | d                                     | d  | 71   | b                                     | b  |
| 20   | d                                     | d  | 72   | d                                     | d  |
| 21   | d                                     | d  | 73   | d                                     | d  |

|      |   |   |      |   |   |
|------|---|---|------|---|---|
| 22   | c | a | 74   | b | d |
| 23   | d | d | 75   | d | d |
| 24   | d | d | 76   | d | d |
| 25   | b | b | 77   | b | d |
| 26   | b | b | 78   | b | d |
| 27   | d | d | 79   | d | d |
| 28   | d | d | 80 A | d | d |
| 29   | d | d | 80 B | d | d |
| 30   | d | d | 81   | d | d |
| 31   | d | d | 82 A | d | d |
| 32   | d | d | 82 B | d | d |
| 33   | d | d | 83   | b | b |
| 34   | d | d | 84   | b | d |
| 35   | d | d | 85 A | d | d |
| 36   | d | d | 85 B | d | d |
| 37   | d | d | 86   | d | d |
| 38   | d | d | 87 A | d | d |
| 39   | a | a | 87 B | b | d |
| 40   | d | d | 88   | d | d |
| 41   | b | b | 89   | b | d |
| 42   | d | d | 90   | d | d |
| 43   | d | d | 91   | d | d |
| 44   | d | d | 92   | d | d |
| 45   | d | d | 93   | a | a |
| 46   | d | d | 94   | d | d |
| 47   | d | d | 95   | d | d |
| 48   | d | d | 96   | d | d |
| 49   | d | d | 97 A | d | d |
| 50 A | a | a | 97 B | d | d |
| 50 B | b | b | 98   | d | d |

|    |   |   |     |   |   |
|----|---|---|-----|---|---|
| 51 | a | a | 99  | d | d |
| 52 | a | a | 100 | a | c |
| 53 | d | d | 101 | d | d |
| 54 | d | d | 102 | d | d |
| 55 | d | d | 103 | d | d |
| 56 | d | d | 104 | b | b |
| 57 | d | d | 105 | d | d |

a, verdaderos positivos; b, falsos positivos; c, falsos negativos; d, verdaderos negativos

### 7.1 Análisis estadístico

Los siguientes cálculos son un ejemplo para demostrar la obtención de sensibilidad, especificidad, valores predictivos (positivos y negativos) y el coeficiente de kappa para *C. albicans*.

Los resultados obtenidos en la tabla 7 se condensaron en una tabla de 2X2, en este caso se estudió el sistema MicroScan® vs. CHROMagar Candida®:

|                   |   |                                |         |     |
|-------------------|---|--------------------------------|---------|-----|
|                   |   | MicroScan<br>(Estándar de oro) |         |     |
|                   |   | +                              | -       |     |
| CHROMagar Candida | + | 62<br>a                        | 5<br>b  | 67  |
|                   | - | 1<br>c                         | 48<br>d | 49  |
|                   |   | 63                             | 53      | 116 |

Para la sensibilidad:  $S = a / (a + c)$   
 $S = 62 / 63 = 0.984 \times 100$   
 $S = 98.4 \%$

Para la especificidad:  $E = d / (b + d)$   
 $E = 48 / 53 = 0.906 \times 100$   
 $E = 90.6 \%$

Para el valor predictivo positivo:  $VPP = a / (a + b)$

$$VPP = 62 / 67 = 0.925 \times 100$$

$$VPP = 92.5 \%$$

Para el valor predictivo negativo:  $VPN = d / (c + d)$

$$VPN = 48 / 49 = 0.98 \times 100$$

$$VPN = 98 \%$$

Para obtener el coeficiente de kappa, primero debemos calcular  $P_o$  y  $P_e$  como se indica en la siguiente fórmula:

$$P_o = (a + d) / n$$

$$P_o = (62 + 48) / 116$$

$$P_o = 0.9482$$

$$P_e = [(a + b)/n] \times [(a + c)/n] + [(b + d)/n] \times [(c + d)/n]$$

$$P_e = [(62 + 5)/116] \times [(62 + 1)/116] + [(5 + 48)/116] \times [(1 + 48)/116]$$

$$P_e = [(67/116) \times (63/116) + (53/116) \times (49/116)]$$

$$P_e = [(0.5776) \times (0.5431) + (0.4569) \times (0.4224)]$$

$$P_e = 0.5066$$

Finalmente sustituyendo los valores anteriores se puede obtener kappa:

$$K = (P_o - P_e) / 1 - P_e$$

$$K = (0.9482 - 0.5066) / 1 - 0.5066$$

$$K = 0.895$$

Este tipo de cálculos también se realizaron para el sistema MicroScan® vs. agar harina de maíz + Tween 80 para *C. albicans*, como para las especies de *Candida* más representativas.

La tabla 11 resume los valores obtenidos para cada especie estudiada por medio del sistema MicroScan® vs. CHROMagar Candida® y MicroScan® vs. agar harina de maíz + Tween 80.

**TABLA 11**

Evaluación comparativa del medio de CHROMagar Candida® vs. Sistema MicroScan® y del agar harina de maíz + Tween 80 vs. Sistema MicroScan®

| Especie                | CHR   | HM    | CHR   | HM    | CHR   | HM    | CHR   | HM    | CHR  | HM   |
|------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|------|------|
|                        | S     | S     | E     | E     | VPP   | VPP   | VPN   | VPN   | K    | K    |
| <i>C. albicans</i>     | 98.4% | 88.8% | 90.6% | 92.4% | 92.5% | 93.3% | 98%   | 87.5% | 0.89 | 0.81 |
| <i>C. tropicalis</i>   | 78.6% | 78.6% | 98%   | 98%   | 84.6% | 84.6% | 97%   | 97%   | 0.79 | 0.79 |
| <i>C. parapsilosis</i> | 53.3% | 73.3% | 87%   | 100%  | 38%   | 100%  | 92.6% | 96%   | 0.35 | 0.83 |
| <i>C. glabrata</i>     | 85.7% | 85.7% | 80.7% | 88%   | 22%   | 31.6% | 98.8% | 98.9% | 0.28 | 0.41 |

CHR, CHROMagar Candida®; HM, agar harina de maíz + Tween 80; S, sensibilidad; E, especificidad; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo, K; coeficiente de kappa.

## 8. DISCUSIÓN:

De acuerdo a los resultados que se obtuvieron en este trabajo, se pueden resaltar varios comentarios; independientemente del tipo de muestra en el que se aislaron las levaduras en estudio, la especie que predominó fue *C. albicans* 63/116 (54.3%). Sin embargo, existe un aumento de otras especies, incluso se presentaron parasitaciones mixtas, que son poco reportadas en la literatura, en las cuales coexistieron las siguientes especies: *C. albicans* y *C. glabrata* (3 casos) o *C. albicans* y *C. tropicalis* (2 casos), principalmente.<sup>34</sup>

Con respecto a la morfología colonial, existieron casos de aislamiento inicial, del medio de agar de Sabouraud, en el que variaban las características de morfológicas, es decir, que en un mismo cultivo puede presentar dos tipos de colonias visiblemente diferentes, por lo que se aislaron y aplicaron la metodología de tipificación por separado, dándonos como resultado en los tres métodos de estudio, que se trataba de la misma especie. Esto comprueba la presencia del denominado “switch” fenotípico que presentan algunas especies de *Candida*, el cual da como resultado cambios fenotípicos con alta frecuencia, este fenómeno se considera una estrategia patogénica del hongo ante los cambios del microambiente que enfrenta tanto comensal como patógeno.<sup>14</sup>

La clasificación de las especies utilizando el medio de CHROMagar Candida® fue sencilla y rápida, la mayoría de las levaduras se pudieron identificar a las 48h dando tonos muy claros, principalmente para las especies de *C. albicans* y *C. tropicalis*, sin embargo, tuvimos cepas que generaron tonos difusos, por ejemplo la número 7 (Tabla 6), que inicialmente fue reportada como una parasitación mixta, por lo que se le realizó, tanto a esta cepa como a otras, una segunda identificación por siembra en agotamiento en el medio de CHROMagar Candida®, pero cuidando de no tomar un gran inóculo inicial y obtener colonias más aisladas. Conforme se realizaron estas pruebas de agotamiento y una segunda identificación, se aclararon las dudas de casos similares, ya que la mayoría de

ellos, se trató de una sola especie; la probable explicación a esto, es que influye la cantidad del inóculo, es decir, para observar mejor las características colorimétricas en este cultivo, es recomendable tener colonias de tamaño pequeño a intermedio; sin embargo, en algunas ocasiones, el problema de manifestación variable de las cepas persistió, comprobándose que no eran mezclas de especies de *Candida*, por lo tanto este es un inconveniente que disminuye la sensibilidad para los medios cromogénicos.

En el caso específico de *C. parapsilosis*, algunos biotipos requieren de por lo menos 72 h para poder ser identificadas cromogénicamente, ya que inicialmente, un pequeño porcentaje de éstas 4/13 (31%) se presentan como colonias blanco-crema que se pueden confundir con otras especies (por ejemplo *C. guilliermondii*)<sup>20</sup> y después pueden cambiar a un tono lila, al igual de que algunos biotipos de ésta, se presentaron como colonias lisas y con el paso del tiempo cambiaron su morfología a rugosas 3/13 (23%)<sup>14</sup>. En cambio con cepas de *C. glabrata*, independientemente de la cantidad de inóculo, en el medio de CHROMagar Candida® se presenta con mayor frecuencia colonias pequeñas lilas brillantes y quedan diferenciadas desde un inicio; esto es de suma importancia, debido a que esta especie, puede presentar con facilidad resistencia a diversos fármacos como fluconazol, asimismo que se considera como uno de los microorganismos más frecuente en infecciones nosocomiales.<sup>15</sup>

El uso del medio de agar harina de maíz + Tween 80 al 1%, es sencillo, barato y accesible. Las lecturas se pueden realizar claramente a partir de las 48h. Lo que hay que tener cuidado es en revisar el medio después de la incubación y que no haya contaminación por algún hongo filamentoso, ya que al momento de observar al microscopio puede dificultar la correcta identificación originando errores y confusión. Cabe señalar que la consistencia de este cultivo es muy friable, por lo que la estría debe realizarse con cuidado, con el fin de no fisurar el medio con el asa, por lo cual se recomienda la siembra con asa bacteriológica. En nuestro estudio utilizamos medios sólidos (agar), que dan resultados mínimos en 48h, sin



embargo cuando se hace esta prueba en medios líquidos, se puede reducir hasta 16 horas, pero se deben mantener en temperatura y agitación constante.<sup>34</sup>

Para el caso de *C. krusei*, en nuestra experiencia, es recomendable que la lectura de este medio de cultivo no rebase las 48h, ya que con el paso del tiempo esta especie se desarrolla abundantemente y puede cambiar o ser más difícil la observación de sus características micromorfológicas.

Por lo que respecta al sistema MicroScan® también tiene ventajas y desventajas, estas últimas, es en la preparación del inóculo, ya que se debe tener cuidado en que la cepa se encuentre pura y/o no estar contaminada por bacterias, asegurar que la turbidez del inóculo no sea menor a la indicada por el equipo, cuidar de no agregar fragmentos de agar cuando se prepare éste, de no ser así, el equipo no identifica adecuadamente a la levadura, o bien se obtienen resultados con un porcentaje muy bajo o bien estos son muy disímolos; por ejemplo tipificación de géneros de *Sacharomyces*, *Prototheca*, entre otras.<sup>39</sup> Otro dato importante es el tiempo que debe tener la cepa en estudio para poder preparar el inóculo, ya que el equipo indica una incubación de 48h, pero en algunos casos a este tiempo no existe un buen desarrollo, por lo que se deja alrededor de 24h adicionales.<sup>39</sup>

Con base en los resultados para evaluar la confiabilidad de los métodos estudiados, y descritos en la tabla 11, hay que hacer notar, primeramente, que aunque no existe un nivel de sensibilidad que determine que una prueba sea aceptable, algunos autores consideran que si los índices tienen un valor mayor del 80% son adecuados, aunque no hay ninguna justificación<sup>11, 12</sup>.

Haciendo un análisis de los resultados de la tabla 11 para *C. albicans*, podemos notar que el medio CHROMagar Candida® es altamente sensible (98.4%) y específico (90.6%), por lo que podemos asegurar, que éste es de gran utilidad para predecir a esta especie. Nuestros valores predictivos tanto positivos como negativos son del 92.5 y 98% respectivamente; el primer término nos indica la

probabilidad de que la especie obtenida sea la que realmente se está identificando, mientras que para el valor predictivo negativo, la probabilidad de que el medio cromogénico nos reporta, que no se trata de *C. albicans*, un 98% nos asegura, de que en realidad no es esta especie; esto lo podemos confirmar con el valor alto de kappa (0.89) y nos indica que nuestros datos no se obtuvieron del azar o que no fueron debidos a la casualidad.

Si los resultados anteriores del CHROMagar Candida® para *C. albicans* los comparamos con los del agar harina de maíz + Tween 80 al 1% para la misma especie, nos podemos dar cuenta de que los valores son parecidos, siendo menos sensible este último medio de cultivo (88.8%), pero más específico (92.4%); en otras palabras, éste medio es útil para la predicción de *C. albicans* en un 88.8% y en un 92.4% nos confirma su identificación. El valor predictivo positivo obtenido fue del 93.3%, el cual es muy alto, mientras que el valor predictivo negativo es ligeramente menor (87.5%) pero queda en un rango aceptable, de igual manera que en el caso de CHROMagar Candida®, se tiene un valor de kappa alto (0.81) y nos refiere que nuestros datos no se obtuvieron por casualidad y que los medios de cultivo estudiados son confiables en la predicción de esta especie. Una explicación por la que pudo haber bajado la sensibilidad del agar harina de maíz + Tween 80 al 1%, descrito anteriormente, sería, porque hubo cepas como la 13 (Tabla 6), que a pesar de haber sido identificada como *C. albicans* tanto en el CHROMagar Candida® como el MicroScan®, no se desarrolló en el agar harina de maíz + Tween 80 al 1%, esto, probablemente porque este medio es muy pobre en nutrientes, por lo que algunas cepas no lograron adaptarse.

La morfología de *C. dubliniensis* en el CHROMagar Candida®, da colonias lisas de un tono verde oscuro, mientras que *C. albicans* se presenta con colonias lisas verde claro, este dato es subjetivo y depende de cada observador, debido a que se pueden confundir notoriamente si no se dispone de un control. Las cepas reportadas en este estudio que presentaron diferentes tonalidades de verde, no podemos asegurar que todas correspondan a *C. albicans*, es decir, algunas de

éstas podrían ser *C. dubliniensis*, pero esto no lo podemos confirmar con este medio cromogénico, ni con observar clamidoconidios en racimos en el medio de agar harina de maíz + Tween 80 al 1% (aunque esta última imagen es sugestiva), sino deben realizarles diferentes estudios, como es secuencialización genética, pruebas fisiológicas complementarias e identificación por PCR<sup>40,41</sup> Remarcando el concepto anterior, cabe hacer notar que se obtuvieron dos reportes del equipo de MicroScan®, que identificaron a *C. albicans* pero con un porcentaje menor al 70% por lo que podríamos pensar, que probablemente se trataban de *C. dubliniensis*.

Ahora si analizamos los resultados de *C. tropicalis* (tabla11), podemos darnos cuenta, que el CHROMagar Candida® y el agar harina de Maíz + Tween 80 al 1%, reportan los mismos valores, por lo que se hará una discusión compartida para ambos medios, con la diferencia de que se tratará de dar justificaciones para cada uno de ellos. Podemos observar en la tabla 11 que la sensibilidad de los medios de cultivo es del 78.6%, casi el valor aceptado por algunos autores para que en este caso, estos medios sean adecuados para predecir a *C. tropicalis*. Pero si seguimos observando la tabla 11 tenemos una alta especificidad (98%) por parte de éstos. Los valores predictivos positivos como los negativos del 84.6% y 97% respectivamente, y nos confirman la probabilidad de identificar a esta especie, mientras que el valor de kappa (0.79), nos hace pensar que los medios son adecuados para identificar a *C. tropicalis* y sobre todo que nuestros datos no fueron obtenidos al azar.

Un motivo por el que la sensibilidad obtenida para *C. tropicalis* es baja, en forma general, para el CHROMagar Candida® como en el agar harina de Maíz + Tween 80, puede ser debida, a que algunas cepas como la 9 y la 53, a pesar de que fueron identificadas correctamente por estos métodos, es decir, que en el medio de CHROMagar Candida® se obtuvieron colonias azul-grises y para el agar harina de Maíz + Tween 80 al 1% se obtuvo la micromorfología característica de esta especie (blastoconidios escasos y aislados con pseudohifas largas), en el sistema MicroScan® la identificación obtenida fue de *kluyveromyces lactis* (para la cepa 9)

y *C. albicans* (para la cepa 53), por lo que se piensa que en este caso el MicroScan® fue el que no identificó correctamente a estas especies, esto quizás por varias razones, una, que la cepa a no estaba completamente pura o aislada; otra razón, porque quizás en estos dos casos, la cantidad de levadura en la preparación del inóculo difería de la indicada.

Ahora analizando específicamente el valor de sensibilidad bajo, obtenido por el medio de CHROMagar Candida® para *C. tropicalis*, una explicación podría ser a que se obtuvieron tres cepas (59, 61B y 65B), las cuales a pesar de que se identificaron en MicroScan® como *C. tropicalis*, desarrollaron como colonias lilas, las cuales no corresponden a la especie en estudio; por otra parte para el caso del agar harina de Maíz + Tween 80, las mismas cepas, no se desarrollaron en este medio, es decir, por lo tanto no hubo filamentación alrededor de la colonia, por lo que no se pudieron identificar adecuadamente.

Ahora si analizamos a *C. parapsilosis*, es importante mencionar que esta especie obtuvo el valor más bajo de sensibilidad en el CHROMagar Candida® (53.3%), con respecto a las otras especies de *Candida* que se evaluaron, pero con una especificidad aceptable (87%), lo que quizás a primera vista estos dos valores no coinciden. El valor predictivo positivo para esta especie, también es muy bajo (38%) y está relacionado con la sensibilidad, una explicación de esto, es que en aproximadamente 31% de las cepas de *C. parapsilosis*, se presentaron con tonos blanco-crema y que se pueden confundir con otras especies, por lo que no es precisa su identificación. Todo esto lo podemos comprobar con el valor de kappa (0.35), el cual nos está indicando, que nuestros datos estadísticos fueron obtenidos al azar, por lo que ahora podemos decir, que este medio, no es el más adecuado para la identificación de este microorganismo, aunque si nos puede dar una idea. Ahora para los resultados obtenidos por el agar harina de Maíz + Tween 80, se tiene una sensibilidad del 73.3%, que en este caso no corresponde al valor recomendado por diversos autores, para predecir a *C. tropicalis*, pero si se observa el valor de especificidad y el valor predictivo positivo, ambos son del

100%, lo que nos dice, que hay un 100% de probabilidad de una identificación de esta especie por parte del medio. El análisis de kappa (0.83) es muy bueno y nos asegura que nuestros resultados estadísticos no fueron obtenidos por casualidad.

Para el caso de los resultados obtenidos para *C. glabrata*, nos podemos dar cuenta en la tabla 11, que tanto el CHROMagar Candida® y el agar harina de Maíz + Tween 80, obtuvieron un valor estadístico de sensibilidad del 85.7%, por lo que es de suponer que los dos medios son adecuados para la predicción de esta especie, mientras que la especificidad obtenida es del 80.7% para el CHROMagar Candida® y del 88% para el agar harina de Maíz + Tween 80, siendo este último mayor que para el medio cromogénico, por lo que los dos indicarían una buena identificación de esta especie.

Los valores predictivos positivos obtenidos en el CHROMagar Candida® y el agar harina de Maíz + Tween 80 son sumamente bajos para *C. glabrata* (22 y 31%), lo que nos muestra una baja probabilidad de los dos medios para identificar a esta especie, en tanto que los valores predictivos negativos son altos (98.8%), lo cual indica una alta probabilidad de predicción de que no se trata en este caso de una *C. glabrata*. Lo anterior, lo podemos confirmar con el valor de kappa, que para los dos casos son muy bajos, y nos hablan de que nuestros resultados sólo fueron obtenidos al azar. La explicación para el caso del medio de CHROMagar Candida®, del porque los valores fueron obtenidos al azar, es que la coloración que tiene ésta en el medio cromogénico es variada y que va a depender mucho de cada observador, aunque la mayor parte de las especies de *C. glabrata* (77%) que fueron confirmadas por el agar harina de Maíz + Tween 80 y por el MicroScan®, corresponden en el medio cromogénico a colonias lilas brillantes.

Por otra parte, para el caso del agar harina de Maíz + Tween 80, *C. glabrata* no produce filamentación y hay casos de cepas en las que no se obtuvo desarrollo (cepa no.41) quizás por la no adaptación de la cepa al medio, por lo que este parámetro no nos confirma en un 100% la presencia de esta especie, es decir, si

sólo se utiliza este medio para la identificación de especies de *Candida*, y que en dado caso no se tuviera desarrollo de las mismas, podría haber confusiones con la identificación correcta de. *C glabrata*.

## 9. CONCLUSIONES:

La especie que se aisló con mayor frecuencia en este estudio identificada por el sistema MicroScan®, fue *C. albicans* 63/116 (54.3%), mientras que la segunda en frecuencia corresponde a *C. parapsilosis* 15/116 (13%) y en seguida *C. tropicalis* 10/116 (8.6%), esto es importante, ya que el saber la frecuencia de éstas ayuda en la elección de tratamiento.

Por medio de este estudio podemos decir que el CHROMagar Candida®, es altamente sensible o confiable para la identificación de *C. albicans* y específico para *C. tropicalis*; aunque hay que señalar que se debe tener la certeza de que esta especie pertenece al género *Candida*, y así evitar confusiones con otro género como *Trichosporon*; para el caso de especies “no-albicans”, (*C. parapsilosis* y *C. glabrata*), los colores de las colonias pueden ser apreciados de manera distinta por diferentes observadores, por lo que es necesario utilizar otra metodología para su identificación.

No es conveniente utilizar este medio para el primo-aislamiento a partir de especímenes biológicos, ya que colores propios de las muestras u oxidación de las mismas, generan colores en la superficie del medio, lo cual induce a confusión en los resultados, fundamentalmente cuando identifica a las especies “no-albicans”.

La utilidad del CHROMagar Candida® es la facilidad con que se identifica, con sólo el crecimiento secundario de diferentes especies de *Candida*, lo cual permite disminuir el costo de la identificación por medio de pruebas bioquímicas duplicadas; también permite reconocer infecciones mixtas.

El medio de agar harina de Maíz + Tween 80, es un medio de fácil preparación, uso y económico, a pesar de que en muchos lugares está en desuso al ser remplazado por nuevos métodos de identificación de especies de *Candida*, es muy confiable para la identificación de *C. albicans*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*.

El sistema MicroScan®, es un equipo automatizado que realiza la identificación de levaduras, mediante pruebas bioquímicas, el costo de tener un equipo de este tipo, es alto, por lo que laboratorios de bajo presupuesto no tienen acceso a estos.

Es sensible para las especies más frecuentes de *Candida*, aunque requiere de vigilancia y control en algunos pasos, principalmente en la preparación del inóculo, por este motivo, por ejemplo, puede llegar a presentar problemas en la identificación de especies; la lectura de los paneles a veces es manual, por lo que es recomendable el apoyo de otras técnicas o medios para la identificación de las especies del género *Candida*.

La principal utilidad de esta tesis radica, en evaluar las técnicas más accesibles para cada laboratorio, que permitan una adecuada identificación de especies de *Candida*.



## APENDICE

### ❖ MEDIOS DE CULTIVO

a) El medio de harina de maíz + Tween 80 está constituido de la siguiente manera:

|                            |       |
|----------------------------|-------|
| Infusión de harina de maíz | 50g   |
| Bacto Agar                 | 15g   |
| Tween 80                   | 10ml  |
| Agua desionizada           | 990ml |

Fundamento:

Identificación presuntiva de especies de *Candida* comúnmente encontradas con base en sus aspectos morfológicos microscópicos y la diferenciación de los géneros *Cryptococcus*, *Saccharomyces*, *Geotrichum* y *Trichosporon*.<sup>2, 10</sup>

La formación de los aspectos microscópicos característicos de las levaduras, se incrementa con la adición de Tween-80 (polisorbato 80), el cual reduce la tensión superficial del medio y promueve una producción óptima de pseudohifas y blastoconidios.<sup>10</sup>

Preparación:

- 1.-Se pesan 27g del medio de harina de maíz, el cual se disolverá en 990ml de agua destilada caliente.
- 2.-Incorporar 10ml de Tween 80 y esterilizar en autoclave a 121°C por 15 minutos.
- 3.-Vaciar el medio en cajas Petri estériles y dejar enfriar.

b) El medio de CHROMagar Candida® está constituido de la siguiente manera (indicado por litro):

|                      |      |
|----------------------|------|
| Peptona              | 10g  |
| Glucosa              | 20g  |
| Agar                 | 15g  |
| Cloranfenicol        | 0.5g |
| “Mezcla cromogénica” | 2g   |

Fundamento:

El medio contiene cromógenos unidos a un sustrato, que permite detectar la actividad enzimática única (específica) presente en alguna de las especies de *Candida*, permitiendo el desarrollo de colonias con diversos colores.

Preparación:

1.-Hervir todos los componentes en un litro de agua destilada y repartir en cajas Petri (no se esteriliza).

c) Sistema MicroScan

Fundamento:

El sistema utiliza pruebas convencionales modificadas y cromogénicas para la identificación de levaduras aisladas en muestras clínicas.

❖ CEPAS ATCC

La siguiente tabla muestra las diferentes especies de *Candida* utilizadas para este trabajo, todas fueron proporcionadas por el Instituto Nacional de Pediatría a excepción de *C. krusei* obtenida de la Facultad de Veterinaria de la UNAM.

**TABLA 12**

Cepas de *Candida* utilizadas como control

| CEPA                   | DESCRIPCIÓN |
|------------------------|-------------|
| <i>C. albicans</i>     | ATCC 2091   |
| <i>C. tropicalis</i>   | ATCC 750    |
| <i>C. parapsilosis</i> | ATCC 22019  |
| <i>C. glabrata</i>     | ATCC 2001   |
| <i>C. krusei</i>       | ATCC 6258   |

## 10. BIBLIOGRAFÍA:

1. Odds FC. *Candida and candidosis*. Bailliere-Tindall. 2<sup>nd</sup> ed. London. 1988.
2. Bonifaz A. *Micología Médica Básica*. Méndez Editores. 2<sup>a</sup>. ed. México, D.F. 2000. Pp: 301-327.
3. Arenas R. *Micología Médica ilustrada*. McGraw-Hill. 2<sup>a</sup>. ed. México, D.F. 2003. Pp: 187-194.
4. Anaissie E, Bodey GP. Nosocomial fungal infections. Old problems and new challenges. *Clin Infect Dis North Am* 1989; 3: 867-882.
5. Diekema DJ, Messer SA, Brueggemann AB, Coffman SL, Doern GV, Herwaldt LA, et al. Epidemiology of candidemia: 3-year results from the emerging Infections and epidemiology of Iowa organisms study. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 1298-1302.
6. Warnock DW, Richardson MD. *Fungal infections in the compromised patient*. John Wiley and Sons Ed. 1st ed., London, 1982.
7. Ree SE, Mayer KH. Opportunistic candidal infections in patients infected with human immunodeficiency virus. *Clin Infect Dis* 1995; 21-S1: 99-102.
8. Pappas PG, Rex JH, Sobel JD, Filler SG, Dismukes WE, Walsh TJ, et al. Guidelines for treatment of candidiasis. *Clin Infect Dis* 2004; 38: 161-189.
9. Freydiere A, Guinet R. Rapid method for identification of the most frequent clinical yeast. *Rev Iberoam Micol* 1997; 14: 85-89.
10. Koneman EW y Roberts GD. *Micología práctica de laboratorio*. Editorial Médica Panamericana. 3<sup>a</sup> ed. México, D.F. 1983. Pp: 175-195.
11. Mendoza VM y Sánchez MA. *Análisis y difusión de resultados científicos*. FES Zaragoza, UNAM. 1<sup>a</sup> ed. México, D.F. 2001. Pp: 5-21.
12. Fleiss, JL. *Design and Analysis of Clinical Experiments*: John Wiley & Sons. New York 1986
13. Beck-Sague C, Jarvis WR. Secular trends in the epidemiology of nosocomial infections in the United States, 1980-1990. National Nosocomial Infections Surveillance System. *J Infect Dis* 1993; 167: 1247-1251.
14. Méndez-Tovar LJ, López-Martínez R, Hernández-Hernández F. Actualidades en micología médica. Contenido temático del VII diplomado en

- micología médica Facultad de Medicina, UNAM. 4ª edición. México. 2008. Pp: 3-6, 239-247.
15. Perea S, Patterson T. Antifungal resistance in pathogenic fungi. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 1073-1080.
  16. Moore GS, Jaciow DM. Mycology for the clinical laboratory. Reston publishing Co., Inc. A Prentice-Hall Company. Reston Virginia. 1979. Pp: 169-201.
  17. López-Martínez R, Méndez-Tovar LJ, Hernández-Hernández F, Castañón-Olivares R. Micología Médica. Procedimientos para el diagnóstico de laboratorio. 2ª ed. Editorial Trillas, México. 2004. Pp: 99-107.
  18. Hopee JE, Frey P. Evaluation of six commercial tests and the germ-tube test for presumptive identification of *Candida albicans*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999; 18: 188-191.
  19. Freydiere AM, Buchaille L, Gille Y. Comparison of three commercial media for direct identification and discrimination on *Candida* species in clinical specimens. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1997; 16: 464-467.
  20. Eraso E, Moragues MD, Villar M, Sahand IH, González N, Pontón J and Quindós G. Evaluation of the new chromogenic medium *Candida* ID 2 and other medically important *Candida* species. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 3340-3345.
  21. Odds Fc, Bernaerts R. CHROMagar *Candida* a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 1923-1929.
  22. Cooke VM, Miles RJ, Price RG, Midgley G, Khamri W and Richardson AC. New chromogenic agar medium for the identification of *Candida* spp. *Appl Environ Microbiol* 2002; 68:3622-3627.
  23. Freydiere AM, Guinet R, Boiron P. Yeast identification in the clinical microbiology laboratory: phenotypical methods. *Med Mycol* 2001; 39: 9-33.
  24. Linares MJ, Solís F. Identificación de levaduras. *Rev Iberoam Micol* 2001; 84-607,3050-3056.
  25. Rippon JW. Medical mycology. The pathogenic fungi and the pathogenic Actinomycetes. 3th ed. W.B. Saunders Company. Philadelphia.1988.

26. Ghannoum MA, Burns GR, Abuelteen K. Experimental evidence for the role of lipids in adherence of *Candida* spp to human bucal epithelial cells. *Infect Immun* 54: 189-193.
27. Anaissie EJ, McGinnis MR, Pfaller MA. Clinical mycology. Churchill Livingstone. Elsevier Science. Philadelphia. 2003.
28. Sullivan DJ, Westerneng TJ, Hayne KA, Bennett DE and Coleman DC. *Candida dubliniensis* sp. nov.: phenotypic and molecular characterization of novel species associated with oral candidiasis in HIV-infected individual. *Microbiology* 1995; 14: 1507-1521.
29. Yücesoy M and Marol S. Performance of CHROMagar *Candida* and BIGGY agar for identification of yeast species. *Ann Clin Microb Antimicrob* 2003; 2:1-8.
30. Beneke ES, Rogers AL. Medical Mycology Manual. Monograph. 4° ed. Ed. Burgess Publishing Company. 1980. Pp: 117-129.
31. Grigoriu D, Delacretaz J, Borelli D. Medical Mycology. Lausanne: La Roche & Co Limited, 1987. Pp : 199-202.
32. Conant NF, Smith DT, Baker RD, Callaway JL. Micología. 3a ed. Editorial Interamericana. México D.F. 1972. Pp: 252-282.
33. Velasco O, Tay J. Introducción a la Micología Médica. 2ª ed. Méndez-Editores. México DF. 2004. Pp: 239-259.
34. Juárez RK, Araiza J, Bonifaz A. Formación de clamidoconidios de *Candida albicans* y *C. dubliniensis* en diferentes medios líquidos y condiciones de incubación. *Rev Mex Micol* 2007; 25:27-31.
35. [www.chromagar.com/products/images/fl.jpg](http://www.chromagar.com/products/images/fl.jpg)
36. Hospenthal DR, Beckius ML, Floyd KL, Horvath LL, Murria CK. Presuntive identification of *Candida* species other than *C. albicans*, *C. krusei*, and *C. tropicalis* with the chromogenic medium CHROMagar *Candida*. *Ann Clin Microb Antimicrob. BioMed Central* 2006; 5:1-5.
37. Hospenthal DR, Murray CK, Beckius ML, Green JA and Dooley DP. Persistence of pigment production by yeast isolates grown on CHROMagar *Candida* medium. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4768-4770.

38. Martínez E, Eslava J, Gaitán M, López R, Gómez F, Cabuto Z, Mayorga J, Arenas R. Candidiasis cutánea: utilidad del CHROMagar Candida en la identificación de especies. *Dermatología Rev Mex* 2008; 52:121-126.
39. MicroScan. Panel para la Identificación Rápida de Levaduras. Manual de Utilización., 2007
40. Sullivan D and Coleman D. *Candida dubliniensis*: Characteristics and identification. *J Clin Microbiol* 1998, 36: 329-334.
41. Sahand IH, Moragues MD, Eraso E, Villar-Vidal M, Quindós G. Supplementation of CHROMagar Candida Medium with Pal's Medium for Rapid Identification of *Candida dubliniensis*. *J Clin Microbiol* 2005, 43:5768-5770.