

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA



**INCIDENCIA DE Candida albicans EN RELACION CON
OTRAS ESPECIES DE Candida EN DIFERENTES
PADECIMIENTOS EN EL HOMBRE**



EXAMENES PROFESIONALES
FAC. DE QUIMICA

**TESIS MANCOMUNADA
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A N**

**Daniel Lizárraga Zatarain
Rosa María Tello Torres**

MEXICO, D. F.

1982



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE.

Introducción	1
Generalidades	3
Bosquejo histórico	5
Definición del genero <u>Candida</u>	7
Definición de candidosis	10
Etiología de la candidosis	10
Distribución geográfica	10
Fuentes de infección	11
Frecuencia según edad, sexo, raza y ocupación.	12
Clasificación de la candidosis	13
Inmunología	20
Tratamiento	21
Metodología	23
Toma de muestra	24
Medios de cultivo	26
Métodos de tinción	30
Diferenciación de especies	32
Diagnóstico diferencial de especies de <u>Candida</u>	33
Parte Práctica	37
Toma de muestra	38
Aislamiento primario	39
Observación microscópica de levaduras	39
Observación de clamidosporas	40
Siembra en caldo maltosa de Sabouraud	40

Observación de brotes germinativos en suero	41
Pruebas de fermentación de carbohidratos	41
Resultados	43
Conclusiones	77
Anexo	81
Bibliografía	88.

INTRODUCCION

INTRODUCCION.

En el presente estudio, tenemos como objetivo principal encontrar la relación existente entre Candida albicans y las demás especies de este género, en diferentes padecimientos en los cuales es frecuente la presencia de este -- hongo.

A partir del nacimiento diversas especies de Candida colonizan la cavidad oral, la presencia de la levadura puede tener su origen en una infección intrauterina, deberse a inoculación durante el paso por la vagina contaminada ó a contaminación por el medio ambiente neonatal, a partir - de este momento, la levadura puede pasar a los demás reservorios en el hombre, donde habita como saprofito, y debido a factores exógenos o endógenos las levaduras pueden volverse patógenas.

Albicans es la especie patógena por excelencia. Excepcionalmente otras especies pueden ser patógenas. Pero los casos originados por especies diferentes a Candida albicans son contados; en cambio los provenientes de esta última se cuentan por miles. La especie albicans no existe en el medio exterior, las búsquedas incesantes en ese sentido han sido infructuosas. Vive normalmente en el hombre, el intestino es su habitat natural, muestra una exquisita selectividad. Por el contrario, otras especies, aunque pueden también encontrarse en el hombre generalmente -

en estado saprofito, siempre se encuentra en el medio exterior.

Es muy difícil determinar el grado de virulencia del microorganismo, dado que el hallazgo de Candida no significa candidosis, ni el establecimiento de este diagnóstico - justifica la iniciación de un tratamiento. Es necesario establecer una correcta correlación clínico-patológica que por desgracia suele no efectuarse, precisamente por no poderse diferenciar si el hongo está en estado saprofito ó - en el de patógeno.

GENERALIDADES

GENERALIDADES.

Las levaduras lo mismo que los mohos, son hongos pero se distinguen de los mohos porque su forma dominante es unicelular. Generalmente se reproducen por gemación. Como células solas, crecen y se reproducen más aprisa que los mohos filamentosos y en proporción a su peso, son más aptas para efectuar cambios químicos porque tienen mayor área superficial en relación a su volumen. Son diferentes de las algas porque no realizan fotosíntesis; tampoco son protozoos puesto que tienen una pared celular rígida. Con facilidad se diferencian de la mayor parte de las bacterias por su tamaño relativamente grande y su morfología.

No obstante lo dicho, las levaduras no forman un grupo bien definido. En otras palabras, no son una entidad taxonómica natural, aunque guardan uniformidad morfológica y así, por lo escaso del criterio morfológico, las especies de levadura se diferencian menos en base a su morfología que a sus características fisiológicas. Algunas son esporógenas y se las reconoce como miembros de Fungi imperfecti. Otras forman esporas sexuales y de esta manera muestran relación clara con los ascomicetos o los basidiomicetos.

Hay aproximadamente 350 especies de levaduras, separadas en unos 39 géneros. En comparación con otros grupos de microorganismos, las levaduras son pocas, ya que las al

gas, las bacterias y los protozoarios suman varios miles - de especies.

A.- Bosquejo histórico.

En el año de 1952, aparece un tratado de taxonomía de levaduras de mucha importancia, "The Yeasts, A Taxonomic - Study", de Lodder y Kreger van Rij. Estos autores en --- 1967 reconocen 30 especies y 6 variedades como válidas, de las cuales únicamente 8 especies pueden causar enfermedad al hombre, C. albicans, C. stellatoidea, C. tropicalis, -- C. pseudotropicalis, C. guillermondii, C. krusei, C. parap silosis y C. lipolitica.

En la actualidad existen varios reportes sobre la pa togenicidad de C. viswanathii, especialmente como agente - etiológico de meningoencefalitis.

El "algodoncillo" o "muget" bucal, es un padecimiento cono cido ya en la antigüedad, aunque no así su etiología.

En la época de los griegos, Hipócrates lo denominó es tomatitis aftosa y Galeno afta blanca. En el año de 1839, Langebeck describe la presencia de una levadura del género Candida. En 1842 Gruby, después de estudiar el hongo -- por más de un año, lo denominó Aptophytes y fue hasta 1853 cuando Charles Robin le da el nombre de Cidium albicans -- después de seis años de haberlo descubierto.

En 1868, Quinquad ofrece una descripción más detalla da del hongo y lo llama Syringospora robinii.

En el período de 1910 a 1923, Vuillemin propuso una clasificación para hifomicetos basándose en la morfología y fisiología de las esporas, dentro de este mismo período, Aldo - Castellani destacó los aspectos biológicos y patológicos - de los hongos levaduriformes, haciendo a un lado la morfología describió numerosas especies de monilia, separándolas - de acuerdo a su acción fermentativa sobre una serie de azúcares, método puramente biológico que llevó al conocimiento de especies importantes como Candida krusei, Candida -- parapsilosis, Candida tropicalis y Candida guilliermondii.

En 1923 Berkhout separó definitivamente las verdaderas monilias de las levaduras filamentosas, elevando este último grupo al rango de género bajo el nombre de Candida.

En los años comprendidos entre 1925 y 1928, Ciferri y Redaelli realizaron estudios para la clasificación de las levaduras anascosporadas; adoptando el género Candida y denominando Torulopsis a las levaduras anascosporadas, sin pigmentos y no filamentosas.

En 1931 Benham además de describir las características físicas de Candida albicans, Candida krusei, Candida - tropicalis, esclarece las dudas sobre morfología y fermentación recurriendo por primera vez a los métodos serológicos para comprobación, como son el de aglutinación directa y la absorción de aglutininas.

En 1934 J. Lodder adopta y modifica la clasificación de Ciferri y Redaelli para levaduras anascosporadas.

En 1938 Langeron y Guerra utilizaron un nuevo método de -- fermentación de azúcares, así como los caracteres secunda-- rios ó sea la observación microscópica de las colonias so-- bre el medio solido, su cultivo en medio líquido y la mor-- fología microscópica, proponiendo una nueva clasificación taxonómica.

B.- Definición del género Candida.

Como los hongos carecen de raíz, tallo y de las es-- tructuras foliáceas definidas que poseen las plantas alta-- mente organizadas y más conocidas, y son además organismos aclorófilicos, han surgido dudas respecto a su clasifica--- ción en los reinos Animal ó Vegetal. Algunos sistemáti--- cos colocarían los hongos, así como a las bacterias en un tercer reino biológico, protista, propuesto por Haeckel en 1866, basándose en la idea de Hogg.

Esta división biológica abarcaría organismos procarió-- ticos y eucarióticos carentes de diferenciación tisular, -- tales organismos incluirían:

Protistas superiores (eucariotes)	}	Hongos
		Algas
		Protozoarios
		Mohos del limo
Protistas Inferiores (procariotes)	}	Bacterias
		Algas cianofitas

Quodando de esta manera el genero Candida clasificado dentro del Reino Protista división protista superiores.

Sin embargo, según el concepto moderno algunos autores, dividen el Reino Vegetal en varias secciones que incluyen hongos, bacterias y formas afines, quedando el género Candida de esta forma clasificado:

Reino: Vegetal

División: Mycota (micota) (hongos)

Subdivisión: Eumycotina (micota) (hongos verdaderos) .

Clase: Deuteromycetes (deuteromicetos) (hongos imperfectos)

El genero Candida pertenece a la clase Adelomycetes ó Deuteromycetes, que carecen de la propiedad de reproducirse sexualmente y se les reconoce por lo tanto como hongos imperfectos (fungi imperfecti). Estos hongos cuya fase sexual se desconoce, se reproducen por talosporas y conidios.

Los Deuteromycetes comprenden 4 órdenes, pero el más importante es el Moniliales que comprende más de 10 000 especies incluyendo las del genero Candida y la inmensa mayoría de los hongos patógenos para el hombre y otros vertebrados.

El orden de las Moniliales se divide en 4 familias, el género Candida pertenece a la familia Cryptococcaceae, que se caracteriza por células gemantes, forman pseudomicelio, micelio verdadero y artrosporas. Los cultivos son color crema, amarillos, naranja o rojos.

La clasificación del género Candida se puede resumir de la siguiente forma:

Reino: Protista

Clase: Deuteromycetes

Orden: Moniliales

Familia: Cryptococcaceae.

Microscópicamente, el género Candida se distingue por ser levaduras de 2 a 6 μ de diámetro, ovaladas o redondas, gemantes, de pared delgada, unicelulares, que pueden formar pseudomicelio ó micelio verdadero. Su reproducción es asexual, por gemación y las blastosporas, pueden estar unidas al pseudomicelio de una manera típica para cada especie. En medio líquido ocurre crecimiento en el fondo, habiendo algunas veces formación de anillos y otras de película. Pueden tener catabolismo estrictamente oxidativo ó tenerlo además de oxidativo, fermentativo.

Otros aspectos morfológicos de valor en la identificación de las especies son: a) la producción de clamidosporas por la especie albicans y en algunas ocasiones, por stellatoidea en medios de harina de maíz ó de arroz; b) la producción de tubos germinativos en suero ó sustitutos del suero y c) la formación de un velo grueso en medios líquidos, como el caso de krusei.

En cuanto a su cultivo, las colonias de Candida sobre medio de Sabouraud glucosado aparecen en 3 ó 4 días, de un color blanco-cremoso, lisas, pastosas y con fuerte olor --

a levadura. En algunas ocasiones con el tiempo las colonias pueden producir filamentos en el medio.

C.- Definición de candidosis.

La candidosis es la micosis oportunista por excelencia, que presenta una gran gama de cuadros clínicos pudiendo ser una enfermedad superficial ó atacar órganos profundos, así como cursar en forma crónica, aguda e incluso fulminante.

D.- Etiología de la candidosis.

La enfermedad puede ser causada por varias especies - del género Candida como son: Candida albicans, que es el agente etiológico más importante, además de Candida krusei, Candida parapsilosis, Candida stellatoidea, Candida tropicalis, Candida pseudotropicalis y Candida guilliermondii, - las cuales ocasionalmente forman parte de la flora humana normal, pero rara vez están relacionadas con un proceso patógeno.

E.- Distribución geográfica.

Su distribución geográfica puede considerarse cosmopolita, se han informado casos de candidosis en todas partes del mundo, pero el hongo puede encontrarse con tal frecuencia en individuos sanos y en tal variedad de formas clínicas, que es imposible obtener datos exactos respecto a la -

distribución geográfica de la enfermedad.

Los hongos del genero Candida son ubicuos y utilizan como reservorio al hombre y a muchos animales homeotermos, a los que con frecuencia causan enfermedad.

F.- Fuentes de infección.

El hombre y otros reservorios, así como objetos contaminados.

La infección es generalmente de fuente endógena, ya que Candida sp. coloniza al organismo desde los primeros días del nacimiento penetrando por vía oral.

Las cepas patógenas de Candida sp. puede aislarse en;

- 1).- Piel normal, 2).- Mucosa bucal y vaginal normales, y
- 3).- En las materias fecales de individuos sanos; salta a la vista que la mayor parte de las infecciones tienen origen endógeno y la determinación de la fuente de infección constituye un problema tan difícil como en el caso de las infecciones por Staphilococcus aureus. En ocasiones la infección es contagiosa y en circunstancias especiales ocurren auténticas epidemias. Se ha observado balanopostitis en los maridos de enfermas que padecen vaginitis y candidosis cutánea, en torno a los pezones de madres de lactantes con "muget" ó "algodoncillo". Se han registrado epidemias de "muget" en lactantes así como de paroniquia, intertrigo y "perleche" ó boqueras. La presencia de Candida en el individuo normal, explica la diseminación durante enfer-

medades debilitantes, padecimientos malignos del sistema hematopoyético, deabetes sacarina, lupus eritematoso, enfermedades granulomatosas, etc.

G.- Frecuencia según edad, sexo, raza y ocupación.

Más que el sexo y la edad, los diversos cuadros clínicos de candidosis están intimamente relacionados con factores predisponentes de oportunismo como la prematurez, lactancia distrófica, ancianidad, embarazo, diabetes y otros muchos.

El "muget" se ha observado con más frecuencia en lactantes cuyas madres padecen candidosis vaginal y en sujetos ancianos con enfermedades consuntivas, como tuberculosis y cáncer.

Se producen lesiones en las manos de amas de casa, panaderos, taberneros y empacadores de frutas, cuyas manos se maceran por el lavado frecuente con agua, se han encontrado lesiones en lengua y labios, sobre todo en pacientes con dentadura mal ajustada y es bien sabido que el embarazo y la deabetes, predisponen a vaginitis por Candida sp. Es también conocida la presencia de endocarditis micótica en drogadictos. En varios de estos casos se han identificado Candida parapsilosis, Candida guilliermondii y Candida albicans.

Los antibióticos de amplio espectro, corticoesteroides y drogas citotóxicas predisponen a la infección por C.

albicans y otras especies, así como la causada ---- por el hongo Torulopsis glabrata relacionado desde el punto de vista antigenico. Los efectos colaterales indeseables de estos agentes han producido un número cada vez mayor de infecciones generales y locales por Candida.

H.- Clasificación de las candidosis.

Convencionalmente se clasifican las candidosis en:

- 1.- Tegumentaria
- 2.- Visceral
- 3.- Septicémica

1.- Las formas prevalentes de candidosis tegumentaria son:

- a.- Oral
- b.- Vulvovaginitis
- c.- Intertriginosa
- d.- Oniquia y Paroniquia
- e.- Cutánea-mucosa generalizada
- f.- Granuloma

a.- En la candidosis oral ó "algodoncillo" las mucosas orales estan cubiertas por placas aisladas con pseudomembranas de color blanco cremoso a gris, constituidas por hi--fas y levaduras fúngicas. Al desprender estas placas dejan al descubierto una mucosa enrojecida. En algunos pacientes la mucosa tiene color rojo intenso y destacan so-

bre las mismas manchas blancas, pequeñas y diseminadas. Se observa de preferencia este cuadro clínico, en pacientes que han desarrollado hipersensibilidad manifiesta al hongo, la cual se descubre por las pruebas cutáneas. La glositis crónica se revela por la presencia de una lengua lisa parecida al caucho, con papilas atróficas, ó en forma de lesiones blancas localizadas en ambos lados y debajo del organo. Las lesiones localizadas se adhieren firmemente a la lengua, estan ligeramente elevadas, son algo rugosas y recuerdan "copos de nieve". Las placas pueden cambiar de color sí el paciente fuma en exceso.

Las boqueras ó "perleche" se caracterizan por la aparición de grietas o fisuras en la comisura de la boca. Se trata de lesiones maceradas, fisuradas y erocionadas con una base eritematosa y humeda. Constituye un factor predisponente, la carencia de riboflavina la cual propicia la proliferación de Candida residente normal de la boca.

b.- Vulvovaginitis. Es una afección frecuente durante el embarazo y la diabetes. Generalmente la mucosa se encuentra enrojecida y exudativa, pero a veces se observan pustulas e incluso, úlceras. Cuando la micosis es severa, lleva al grado de incapacitar al paciente. A veces se observa una intensa vulvovaginitis con muy escasos parásitos, lo que sugiere una hipersensibilización a Candida ó a sus productos metabólicos; en el embarazo se considera como --

factor predisponente el exceso de productos de tipo glucógeno en el epitelio vaginal. Se observa este tipo de vaginitis más frecuentemente en clases económicamente pobres, más a menudo durante el embarazo (15 a 30%), que en mujeres no grávidas (7 a 16%) y todavía con más frecuencia en mujeres negras embarazadas (41%).

Las investigaciones de Carter y Co. han revelado la frecuente presencia de Candida albicans en casos de vulvovaginitis, pero si no existen síntomas de vaginitis, suele predominar Candida stellatoidea organismo parecido morfológicamente pero menos patógena.

En la era preantibiótica, las vulvovaginitis causadas por Tricomonas vaginalis predominaban en relación de 4:1 sobre las candidósicas. En la actualidad esta relación -- se ha invertido e incluso la vulvovaginitis candidósica ha mostrado un gran predominio, relación 7:1 en mujeres no embarazadas y 15:1 en las embarazadas.

c.- La Candidosis intertriginosa, se caracteriza por la aparición de placas eritematoescamosas en los pliegues cutáneos. Estas placas pueden ser secas o exudativas, con bordes bien definidos y tener en el centro vesículas ó pústulas. Los sitios más afectados son los espacios interdigitales, el perineo, las axilas, los surcos submamarios y glúteos; con mucha frecuencia produce prurito intenso. La candidosis perianal produce prurito del ano, y lesión -

de tipo macerativo blanco que se parece a la variedad húmoda de infección causada por miembros del grupo dermatofitos de hongos.

d.- Oniquia y paroniquia. En personas que desempeñan labores que originan maceración cutánea de los dedos de las manos ó de los pies, es frecuente la existencia de lesiones en la base de las uñas que se caracterizan por eritema, inflamación y dolor intenso. Generalmente la uña está infectada, se observa de color café y estriada. La uña se endurece, engruesa y cubre de surcos pero conserva gran parte de su brillo y no se torna quebradiza, no acumulándose residuos debajo de la misma, como en pacientes con tiña ungueal.

e.- Candidosis cutáneo-mucosa generalizada. Es muy resistente al tratamiento. Las lesiones asientan sobre la piel sin pelo y suelen asociarse con glositis, estomatitis paroniquia u otros tipos de infección localizada. Esta infección radica casi siempre en las zonas inframamarias, ombligo y pliegues gluteos; pueden adquirir tipo eccematoide ó cubrirse de vesículas ó pústulas. Se encuentra a menudo este tipo de infección en niños prematuros cuyas madres padecen candidosis vaginal.

En pacientes diabéticos y especialmente en niños con inmunidad celular muy deprimida ó ausente, la candidosis -

se puede diseminar ampliamente, afectando la piel y mucos--
 sas, algunas de ellas internas, como en la mucosa intes--
 tinal ó bien, producir lesiones granulomatosas subcutá--
 neas. La presencia de Candida albicans en estos pequeños
 enfermos constituye un exponente de su deficit inmunologi--
 co.

Estos cuadros clínicos son muy severos y virtualmente
 imposibles de curar por los medios comunes.

f.- Granuloma. Son lesiones granulomatosas, causada --
 por una candidosis superficial, que se profundiza. Se ob--
 serva en pacientes con defensas abatidas. Este cuadro es
 de muy difícil tratamiento.

2.- La candidosis visceral consta de los siguientes cua--
 dros clínicos:

- a.- Candidosis broncopulmonar
- b.- Endocarditis candidósica
- c.- Candidosis meningoencefálica
- d.- Candidosis del tracto urinario.

a.- La candidosis broncopulmonar se caracteriza por pre--
 sentar generalmente un cuadro bronquítico crónico, que cur--
 za con tos productiva ó no; en caso de ser productiva, ha--
 bra espectoración mucoside ó incluso hemoptóica; a veces --
 puede haber pleuritis.

La tos es el síntoma más característico y molesto, ya que apenas se afecta el estado general del enfermo. El esputo es casi siempre incoloro pero mucoso y gelatinoso, y contiene a menudo pequeños copos grises, compuesto de células fungosas en gemación y de residuos celulares, en ocasiones cura la infección espontáneamente, pero a menudo se prolonga durante años con progresión y remisiones periódicas. En candidosis bronquial, los signos físicos corresponden a los de una bronquitis con estertores húmedos de pequeñas y medianas burbujas en las bases pulmonares.

La candidosis pulmonar no es tan frecuente como la bronquial pero sí más grave. En estos enfermos se elevan moderadamente la temperatura y el pulso, el dolor pleural es frecuente y ocasional el derrame pleurítico. La tos atormenta al enfermo, el cual espulsa esputo mucoso, gelatinoso a veces con estrias de sangre. El esputo purulento indica con frecuencia infecciones secundarias por cocos piógenos.

b.- Endocarditis candidósica. Hasta hace unos años era casi exclusiva de los drogadictos. En la actualidad se ha incrementado por el aumento de la drogadicción, la cateterización cardíaca y la cirugía cardiovascular. Harrrell y Thompson han estudiado las infecciones micóticas que siguen a la endocarditis bacteriana y Utz y Col, las consecutivas a cirugía cardíaca. De 21 pacientes estu--

diados por Utz, 6 fueron tratados con antibióticos. Se reprodujo la infección en perros con Candida guilliermondii mediante insuficiencia aórtica inducida quirúrgicamente, - administración de tetraciclina e inoculación intravenosa - del microorganismo.

Mendelblatt y Roberts y Manchester y George han informado de infecciones de la córnea, las dos primeras causadas por Candida albicans y la tercera por Candida parapsilosis. Sin embargo, es necesario comprobar la presencia de un mínimo de 1 000 colonias de Candida en la muestra fresca antes de formular el diagnóstico de candidosis.

c.- Candidosis meningoencefálica. Se observa como producto de la diseminación hematógena de Candida, pero a veces suele observarse solo lesión meníngea. El agente etiológico más frecuente de este tipo de meningitis es Candida albicans y a diferencia de lo que sucede en otros tipos de meningitis fúngica, en la causada por Candida existe leucocitosis intensa en el líquido cefalorraquídeo con predominio de polimorfonucleares.

d.- Candidosis del tracto urinario. En niños pequeños, la candidosis del tracto urinario es secundaria a la introducción de sondas por tiempo prolongado ó debido a malformaciones congénitas. En el niño y el adulto la cirugía y especialmente el trasplante renal son los factores predisponentes.

3.- Septicemia. Es una afección día a día más frecuente y este incremento obedece al empleo cada vez más amplio de corticoesteroides, inmunodepresores, citotóxicos y de la cirugía cardiovascular. La afección constituye la forma fulminante de la candidosis y tiene una letalidad de casi el 100%.

I.- Inmunología.

Es bien conocido que el diagnóstico de candidosis se establece por el aspecto clínico de las lesiones, que suelen ser más o menos características, seguido del estudio micológico, donde el frotis teñido muestra abundantes levaduras y los cultivos facilitan el aislamiento de Candida.

Por el contrario, en las candidosis profundas, las manifestaciones clínicas son tan variadas, que pueden confundirse con algunos procesos infecciosos propios del órgano afectado. Por otra parte, el diagnóstico de laboratorio no siempre puede ser positivo de primera intención, por dificultades en la toma adecuada del producto, así como la correcta interpretación del aislamiento de este organismo en mucosas humanas. La imagen clínica, aunada a los resultados de laboratorio, pueden orientar sobremanera al diagnóstico de candidosis profunda en aquellos casos en que sabemos que este padecimiento se encuentra asociado a diabetes mellitus descompensada, padecimientos tuberciales, hematológicos y estados hiponutricios, etc., en tales ca--

Los, las reacciones inmunológicas pueden ser de gran utilidad.

Actualmente se han empleado para tal fin las reacciones de precipitación, de fijación del complemento, de inmunodifusión, de inmunoelectroforesis y de anticuerpos fluorescentes. El éxito que tiene cada una de ellas, varía en relación con la experiencia de los autores que las reconocen.

El empleo de antígenos de buena calidad, aunado a la elección de una buena técnica inmunológica, hace posible establecer oportunamente el diagnóstico de candidosis profundas, evitando así la evolución del padecimiento que en muchas ocasiones puede ser fatal.

J.- Tratamiento.

Ninguna forma clínica de candidosis curará sino se corrigen los factores que determinan su oportunismo.

La candidosis oral se trata con solución saturada de bicarbonato de sodio, aplicando directamente el polvo, tintura de millan, así como la aplicación local de nistatina y anfotericina B.

La terapia de elección en la vulvovaginitis candidótica, es la aplicación de tabletas vaginales de nistatina.

La candidosis intertriginosa, responde bien a la aplicación local de nistatina, anfotericina B, asociada a corticoesteroides, ya que éstos evitan el problema de hiper-

sensibilizada causada por los productos metabólicos ó las levaduras muertas.

La oniquia responde mal a cualquier tipo de tratamiento, pero la paroniquia responde rápidamente a la terapia descrita para la afección intertriginosa.

La candidosis cutánea granulomatosa, deberá ser tratada como si fuera una forma visceral. La candidosis cutánea generalizada, que está asociada a depresión intensa ó ausencia de hipersensibilidad celular, sólo curará cuando se utilice asociado a tratamiento específico, por vía oral ó parenteral, el factor de transferencia específico.

En la candidosis visceral y en la candidemia, la anfotericina B intravenosa, suele dar buenos resultados.

En la actualidad, la 5-fluorocitocina se considera la terapia de elección aunque las cepas hacen rápida resistencia a este producto.

METODOLOGIA

METODOLOGIA.

A.- Toma de Muestra.

Sangre.

El área de punción para la toma de muestra de sangre, debe limpiarse y tratarse con alcohol al 79 por 100, alcohol iodado, merthiolate, ó cualquier germicida de uso local, dejando una compresa con el agente químico en el área de punción durante varios minutos. Esto tiene por objeto eliminar la flora normal de la piel, consistente principalmente en estafilococos blancos. La cantidad de sangre extraída debe ser de aproximadamente 10 mililitros.

Líquido amniótico.

Se toma por aspiración con jeringa ó por simple punción con aguja especial, dejando que el material llegue por sí solo al frasco colector. Deben observarse rigurosas condiciones de asepsia. Otra forma es obteniendo la muestra en el momento del parto, recolectándola en un recipiente estéril, esta forma no es muy recomendable porque la muestra se puede contaminar durante el paso por la vagina.

Secreciones vaginales y cervico vaginales.

Se coloca a la paciente en posición ginecológica y se

le pide su colaboración para la introducción del espejo vaginal, una vez abierto este, se procede a tomar la muestra con hisopo, procurando raspar aquellos lugares donde se observa enrojecimiento ó ulceración. Los hisopos se sumergen en medios adocuados.

Heces.

La muestra de heces se recoge en un depósito estéril, colocándola con ayuda de una espátula en un frasco con boca ancha y tapa de rosca. En algunos casos, principalmente en niños, se impone el empleo del hisopo, que se hace rotar en los bordes del ano hasta obtener la muestra.

Nasofaringe y faringe.

Se usan hisopos en varillas ó alambres curvos, tratando en lo posible, de que la muestra no se contamine a su paso por la boca con la saliva ó con las partes anteriores a las fosas nasales. Los hisopos se colocan en tubos estériles debidamente tapados ó sumergidos en medios adecuados.

Piel.

La toma de muestra de piel, se realiza, con un raspado con bisturí ó portaobjetos, principalmente en los bordes de la lesión, colectando las escamas en placa de Petri ó poniendolas entre dos láminas limpias y flameadas, que se unirán por sus bordes con tela adhesiva. Esto también puede, utilizarse para muestras de pelos y uñas.

B.- Medios de cultivo.

Agar de Biggy.

El agar de glicina, glucosa, levadura y sulfito de -- bismuto, fué descrito por Nickerson en 1953, en un estudio de reducción del sulfuro por especies de Candida. El medio es útil para el aislamiento y la identificación presuntiva de Candida por medio de la reacción del sulfuro.

Usos.

El agar de Biggy es útil para aislar Candida albicans y Candida tropicalis y para la diferenciación de especies en la siguiente forma segun Nickerson:

Candida albicans. Colonias lisas, hemisféricas, ó circulares de color que varia de café a negro con un ligero bor de micelial.

Candida tropicalis. Colonias discretas de color café oscuro, con una prominencia negra central y un ligero borde micelial. Ennegrecimiento difuso de este medio unicamente con esta especie, después de incubar durante 72 horas.

Candida krusei. Colonias rugosas, planas, grandes, con periferia que varía de color café negrusco plateado a café y un halo amarillo.

Candida parakrusei. Colonias de tamaño mediano, frecuentemente rugosas, planas, de color café rojizo claro ó café rojizo obscuro brillante y con un borde micelial extenso - amarillento.

Candida pseudotropicalis. Colonias planas, grandes, de color café rojizo obscuro brillante con un ligero borde micelial.

Candida stellatoidea. Colonias de tamaño mediano, planas de color café muy obscuro, casi sin desarrollo micelial.

Agar maltosa de Sabouroud.

Se recomienda para el cultivo de hongos en general.

Usos.

El agar de Sabourud se puede emplear para el aislamiento, identificación y conservación de hongos, tanto patógenos como saprófitos, se emplea en tubos y en placas. Mediante la adición de un antibiótico puede usarse en el aislamiento de hongos de muestras contaminadas.

Agar de harina de maíz.

Se usa para el cultivo de hongos. Es adecuado para la preparación de cultivos inclinados ó en placas.

Usos.

El agar harina de maíz se ha empleado especialmente en estudios morfológicos de Candida considerándola un medio superior para la producción de clamidosporas. se ha informado que la adición de polisorbato 80 estimula la formación de clamidosporas.

Caldo maltosa de Sabouraud.

Es la forma líquida del agar de maltosa de Sabouraud y se usa para el cultivo de levaduras y mohos cuando se requiere un caldo de maltosa ácido.

Agar de Levine con EMB.

El agar de Levine con eosina azul de metileno, es un medio usado en placas para la investigación y diferenciación de bacilos entéricos, microorganismos coliformes y también se usa para aislar Candida.

Medio de Raulin.

Este medio se utiliza para la purificación de levaduras, ya que esta hecho a base de sales y pH ácido y permite solo el crecimiento de estas.

Agar de soya tripticase.

Es un medio solido para propósitos generales, comparable con el caldo de soya tripticase, valioso especialmente para el aislamiento, pruebas de sensibilidad y determinación de hemólisis de microorganismos delicados, cuando se le adiciona el 7% de sangre desfibrinada.

Usos.

La identificación de Candida albicans puede hacerse comodamente por medio de placas con agar de soya tripticase preparadas con sangre de carnero desfibrinada. En

placas incubadas a 35 ó 37°C durante 48 horas, Candida albicans y Candida stellatoidea, forman colonias filamentosas.

Agar de zeína.

Se recomienda para la demostración de formación de clamidosporas de Candida albicans. Consiste en sustancias extraídas con agua de la proteína zeína del maíz e incorporadas al agar. En esta forma está libre de polisacáridos.

Usos.

Para la identificación de Candida albicans, se inoculan las placas de zeína, pueden formarse clamidosporas a las 24 horas de incubación, ésta debe de continuarse durante una semana ó 10 días antes de desecharse como negativa.

Deben tomarse las debidas precauciones para evitar las perdidas de humedad, esto puede ser mediante el uso de bandas de hule ó placas selladas.

Clamidospora agar.

Se prepara de acuerdo con la fórmula de Nickerson y Mankowski, este medio es usado para la diferenciación de Candida albicans de otras especies de Candida, basándose en la formación de clamidosporas.

Agua de papa para clamidosporas.

Consiste en un medio líquido, sumamente económico y - de preparación sencilla, en el cual se podrá hacer la prueba de formación de clamidosporas para Candida albicans.

Base de agar telurito tripticase.

Este medio puede utilizarse con la adición de telurito de potasio y suero para examen de cultivos de productos obtenidos de garganta, nariz y vagina. En suma, permite un aislamiento selectivo de estreptococos, listerias y --- Candida albicans.

Para fórmula y preparación de estos medios de cultivo ver anexo I.

C.- Métodos de tinción.

Método de tinción de Gram.

Con el método de Gram, la tinción de Candida es integramente positiva.

Método.

- 1.- Fijar el frotis por calor.
- 2.- Cubrir con cristal violeta durante 1 minuto.
- 3.- Lavar con agua. No secar con papel.
- 4.- Cubrir con iodo de Gram durante 1 minuto.
- 5.- Lavar con agua. No secar con papel.
- 6.- Decolorar por 10 - 30 segundos con acetona al 30% en -

alcohol absoluto agitando suavemente.

- 7.- Lavar con agua. No secar con papel.
- 8.- Cubrir durante 10 - 30 segundos con safranina. Solución al 2.5% en alcohol al 95%.
- 9.- Lavar con agua y dejar secar.

El procedimiento para la tinción de Gram se inicia -- con la aplicación de un colorante básico, el cristal violeta. Luego se aplica una solución de yodo; en este momento todas las células se tiñen de azul. Entonces las células son tratadas con alcohol; las células grampositivas retienen el complejo cristal violeta - yodo permaneciendo de color azul; por otra parte, las células gramnegativas se decoloran completamente por el alcohol. Por último se aplica un colorante de contraste, la safranina, que es un colorante rojo; en esta forma, las células gramnegativas, previamente decoloradas, toman el colorante de contraste. la base de la reacción diferencial Gram es la estructura de la pared celular.

Método de tinción con azul de algodón con lactofenol de Amann.

Método

- 1.- Separar con cuidado una pequeña parte del cultivo.
- 2.- Añadir una gota de alcohol al 95% y dejar secar.
- 3.- Añadir una gota de azul de algodón con lactofenol.
- 4.- Dejar reposar durante 3 minutos.
- 5.- Colocar un cubreobjetos limpio encima y presionar sua-

vemente.

Para el examen de las colonias, se emplea un alambre - recto ó curvo, que sirve para colocar un fragmento de la colonia en una placa con una gota de azul de algodón con lactofenol de Amann. El fragmento se separa luego con mucho cuidado, empleando agujas especiales y se cubre con un cubreobjetos. Un ligero calentamiento puede facilitar la - penetración del colorante. Luego se examina la prepara-- ción en busca del característico aspecto microscópico. Si el material recogido es graciento ó lleva sebo, lávese con acetona ó alcohol antes de añadirse el colorante.

Para hacer esta preparación permanente, se deja secar durante tres semanas y se sella el cubreobjetos con un a-- gente adecuado como el colodión ó asfalto. Este tipo de preparaciones permanece sin alterarse durante muchos años.

El azul de algodón con lactofenol de Amann, se prepara de la siguiente manera: Cristales de fenol 20 gramos; - glicerol 40 mililitros; ácido láctico 20 mililitros; a-- gua destilada 20 mililitros. Disolver calentando suave-- mente. Añadir 0.05 gramos de azul de algodón.

D.- Diferenciación de especies.

Algunos autores han tratado de diferenciar las espe-- cies empleando criterio inmunológico, pero solo se ha com-- plicado extraordinariamente tal diferenciación; así, por -

ejemplo, Axelsen ha demostrado la existencia de 78 antígenos diferentes de Candida albicans mediante inmuno-electroforesis cuantitativa. Es por esto que la actividad bioquímica de Candida, mediante reacciones fermentativas constituye aún la mejor manera de diferenciar las especies.

Pruebas de fermentación de azúcares. Zimograma.

Los carbonhidratos más empleados para esta prueba son los siguientes: Glucosa, galactosa, sacarosa, maltosa, fructuosa, rafinosa y lactosa.

Método.

- 1.- Colocar en tubos de ensaye agua peptonada al 2%. 2 ml.
- 2.- Agregar los diferentes azúcares en una concentración del 2%. 2 mililitros.
- 3.- Mezclar.
- 4.- Sellar con tapones de parafina-vaselina en proporción de 1 : 4. La altura debe ser de 2 a 3 mm.
- 5.- Tindalizar en baño maría ó a vapor fluente ó autoclave durante 30 minutos.
- 6.- Observar y comparar resultados según la tabla de zimograma.

B.- Diagnóstico diferencial de especies de Candida.

- 1.- Agar de Sabouraud.
 - a).- C. albicans.- Crecimiento cremoso.
 - b).- C. tropicalis.- No característico.

- c).- C. pseudotropicalis.- No característico.
- d).- C. krusei.- Plano y seco.
- e).- C. parapsilosis.- Crecimiento cremoso.
- f).- C. stellatoidea.- Crecimiento cremoso.
- g).- C. guillermondii.- Crecimiento cremoso.

2.- Caldo de Sabouraud.

- a).- C. albicans.- Ausencia de crecimiento en la superficie.
- b).- C. tropicalis.- Película estrecha superficial con burbujas.
- c).- C. pseudotropicalis.- Ausencia de crecimiento en la superficie.
- d).- C. krusei.- Película superficial ancha.
- e).- C. parapsilosis.- Ausencia de crecimiento en la superficie.
- f).- C. stellatoidea.- Ausencia de crecimiento en la superficie.
- g).- C. guillermondii.- Ausencia de crecimiento en la superficie.

3.- Agar Sangre.

- a).- C. albicans.- Colonias de tamaño medio y de color gris mate.
- b).- C. tropicalis.- Grandes colonias grises rodondas de una orla micelial.

- c).- C. pseudotropicalis.- Colonias pequeñas, no características, micelio mal desarrollado, sin clamidosporas.
- d).- C. krusei.- Colonias pequeñas de forma irregular, planas ó amontonadas.
- e).- C. parapsilosis.- Colonias pequeñas de color blanco brillante.
- f).- C. stellatoidea.- Colonias que inician su desarrollo.
- g).- C. guillermondii.- Colonias de tamaño mediano de color gris mate, micelio bien desarrollado sin -- clamidosporas.

4.- Agar harina de maíz.

- a).- C. albicans.- Micelio ramificado de tipo arbóreo, con clamidosporas.
- b).- C. tropicalis.- Micelio bien desarrollado, ramificado, portador de gran número de blastosporas, -- sin clamidosporas.
- c).- C. pseudotropicalis.- No hay desarrollo.
- d).- C. krusei.- Micelio con aspecto de bastones cruzados, sin clamidosporas.
- e).- C. parapsilosis.- Micelio bien desarrollado, sin clamidosporas.
- f).- C. stellatoidea.- Micelio con acúmulos de blastosporas de gran tamaño y de forma esférica.
- g).- C. guillermondii.- No hay desarrollo.

ZINOGRAMA DE LAS PRINCIPALES ESPECIES DE CANDIDA

TIPO	GRUPO	ESPECIE	GLU	SAC	MAL	F.U	GAL
Grupo Maltásico	<u>albicans</u>	<u>albicans</u>	+	-	+	+	±
		<u>stollatoidea</u>	+	-	+	+	-
Grupo Malto-sacarásico	<u>tropicalis</u>	<u>tropicalis</u>	+	+	+	+	+
		<u>intermedia</u>	+	+	+	+	+
		<u>pelliculosa</u>	+	+	+	+	+
Grupo Lacto-sacarásico	<u>Pseudotropicalis</u>	<u>pseudotropicalis</u>	+	+	-	+	-
Grupo Sacarásico	<u>guilliermondii</u>	<u>guilliermondii</u>	+	+	-	+	+
		<u>chalmersi</u>	+	±	-	+	±
Grupo Simático Simple	<u>krusei</u>	<u>krusei</u>	+	-	-	+	-
		<u>parakrusei</u>	+	-	-	+	-
		<u>aldoi</u>	+	-	-	+	-
	<u>brumpti</u>	<u>brumpti</u>	±	-	-	+	-
		<u>flareri</u>	±	-	-	±	-
Grupo Asimático	Azimático	<u>zeylanceides</u>	-	-	-	-	-
		<u>deformans</u>	-	-	-	-	-
		<u>suaveolens</u>	-	-	-	-	-

**PARTE
PRACTICA**

PARTE PRACTICA.

Las muestras fueron proporcionadas por el personal del laboratorio de Bacteriología del Hospital de la Mujer de la Secretaria de Salubridad y Asistencia.

Se tomaron un total de 247 muestras divididas como sigue:

- 115 muestras de exudado vaginal.
- 69 muestras de exudado faringeo.
- 31 muestras de heces.
- 6 muestras de sangre.
- 14 muestras de líquido amniótico.
- 12 muestras cérvico-vaginales.

Las muestras de exudado vaginal se obtuvieron directamente, con hisopos estériles de pacientes que presentaban vaginitis. Las muestras de los exudados faríngeos se tomaron de pacientes que presentaban inflamación o síntomas de infección de las vías respiratorias superiores, la recolección de muestras se realizó con hisopos estériles. Las muestras de heces se tomaron a niños que presentaban cuadros de diarrea, la muestra fué tomada con hisopos directamente del ano.

Las muestras de sangre se obtuvieron por punción a pacientes con sintomatología diversa. Las muestras de líquido amniótico se tomaron de pacientes en el momento del par-

to, recolectando la muestra en tubos estériles. Las muestras cérvico-vaginales se tomaron a pacientes que presentaban inflamación vaginal, la muestra se tomó con hisopos y empleando espejo vaginal.

Aislamiento primario.

Las muestras fueron descargadas directamente en placas con medio de agar maltosa de Sabouraud, adicionado con 0.2% de sulfadiazina como inhibidor del desarrollo bacteriano.

El medio de Sabouraud fué preparado pesando 65 gramos del medio deshidratado en 1 000 mililitros de agua destilada, calentando hasta disolución completa y esterilizando en autoclave a 121°C y 15 libras de presión, durante 15 minutos. Una vez que se enfria el medio a una temperatura de 45°C, se le adiciona el antibiótico, el cual previamente fué disuelto en agua destilada estéril. El medio - aún líquido, se vierte en cajas Petri, aproximadamente 20 - mililitros en cada caja, se dejan solidificar y se guardan en refrigeración a 4°C.

En cada caja Petri se descargó una muestra diferente la cual se estirió para el aislamiento de las colonias. - Se incubaron las muestras a 37°C durante 5 días, las muestras positivas para Candida presentaban colonias medianas, blancas, de aspecto cremoso, convexas y de bordes lisos.

Observación microscópica de levaduras.

Se realizó a las colonias que presentaban formas de -

crecimiento característico de Candida, y se tiñeron por -- Gram; observándose levaduras ovales de 2 - 6 micras, gram-positivas.

Observación de clamidosporas.

Siembra en agar harina de maíz. Del primer aislamiento se procede a sembrar en este medio, que se prepara de la siguiente manera: Se hierve a fuego lento harina de maíz y agua durante 1 hora. Se filtra por gasa. Se mide y -- completa el volumen hasta 1 000 mililitros. Se añaden 15 - gramos de agar y 10 gramos de tween 80. Se funde en auto- -- clave. Se filtra por dos capas de algodón y gasa. Se co- -- loca en cajas esterilizando en autoclave a 15 libras de pre- -- sión, durante 15 minutos. Una vez solidificado el medio, se inocular mediante un corte en el agar con un hilo metálico recto, que contenga una pequeña cantidad del cultivo que se está examinando. Las clamidosporas son características de Candida albicans, por ser la única especie del género -- que las produce.

Siembra en caldo maltosa de Sabouraud,

Esta siembra se realiza para la observación del desarrollo en la superficie, que es característico de la especie tropicalis, que en caldo forma una película estrecha, - superficial con burbujas y de Candida krusei que forma una película superficial ancha. El medio se prepara igual que

el agar maltosa de Sabouraud, pero sin el agar.

El medio se lleva a tubos de ensaye, se esteriliza en autoclave a 121°C y 15 libras de presión durante 15 minutos. Se enfría y se inocula mediante una asada de la misma colonia que se ha estado trabajando, se observa el desarrollo a las 24 horas.

Observación de brotes germinativos en suero.

Partiendo de la colonia del primer aislamiento, se inocula un tubo de ensaye, que contiene 0.5 mililitros de suero sanguíneo. Se incuba a 37°C y se observa a las 4 horas. Los brotes germinativos son característicos de Candida albicans.

Pruebas de fermentación de carbohidratos.

La fermentación de carbohidratos, es la prueba más utilizada para la diferenciación de las especies del genero Candida, se realizan de la siguiente manera:

Se prepara agua peptonada al 2% y los azúcares: glucosa, sacarosa, maltosa, fructuosa, galactosa, también al 2% y se colocan 2 mililitros en cada tubo respectivamente y 2 mililitros de agua peptonada, se esterilizan en autoclave a 121°C y 15 libras de presión durante 15 minutos, se dejan enfriar y se inoculan con una asada de la misma colonia que se esta trabajando, después de la inoculación se tapan los tubos con una mezcla de parafina y vaselina en

una proporción de 1 ; 4 y se incubaba a 37°C durante 48 horas. En caso de haber producción de gas, los tapones son separados del medio, considerándose esté hecho como una reacción positiva. Los resultados se comparan con el cuadro de fermentación.

Este método es el de Langeron y Guerra, para la identificación de levaduras.

Para leer correctamente la zimografía, debemos tomar en cuenta los postulados de Staeling Dekker y son los siguientes:

- 1.- Las levaduras que no fermentan la glucosa, no fermentan ningún azúcar.
- 2.- Las levaduras que fermentan la glucosa, fermentan la fructuosa y manosa.
- 3.- No hay levaduras que fermenten lactosa y maltosa al mismo tiempo.

RESULTADOS

Pruebas bioquímicas	Galactosa	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-
	Fructuosa	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-
	Maltosa	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-
Observación de brotes germinativos en suero.	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	
Observación microscópica de levaduras.	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	-	+	-	+	+	-	-	+	-	-	
Muestra vaginal.	V 1	V 2	V 3	V 4	V 5	V 6	V 7	V 8	V 9	V 10	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-
	Fructuosa	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-
	Maltosa	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-
Observación de brotes germinativos en suero.	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	
Observación microscópica de levaduras.	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	+	-	+	-	-	+	+	+	-	-	
Muestra vaginal.	V 11	V 12	V 13	V 14	V 15	V 16	V 17	V 18	V 19	V 20	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+
	Fructuosa	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+
	Maltosa	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+
Observación de brotes germinativos en suero..	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	
Observación microscópica de levaduras	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	
Muestra vaginal	V 21	V 22	V 23	V 24	V 25	V 26	V 27	V 28	V 29	V 30	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-
	Fructuosa	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-
	Maltosa	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-
Observación de brotes germinativos en suero.	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	-	+	-	+	-	+	+	+	-	-	
Observación microscópica de levaduras.	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	-	+	-	+	-	+	+	+	+	-	
Muestra vaginal.	V 31	V 32	V 33	V 34	V 35	V 36	V 37	V 38	V 39	V 40	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-
	Fruectuosa	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-
	Maltosa	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-
	Sacarosa	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
	Glucosa	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-
Observación de brotes germinativos en suero.	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	+	-	+	+	+	-	-	-	+	-	
Observación microscópica de levaduras.	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	+	-	+	+	+	+	-	-	+	-	
Muestra vaginal.	V 41	V 42	V 43	V 44	V 45	V 46	V 47	V 48	V 49	V 50	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+
	Fructuosa	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
	Maltosa	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+
Observación de brotes germinativos en suero.	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de narina de maíz.	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	
Observación microscópica de levaduras.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	+	+	+	+	+	+	-	-	-	+	
Muestra vaginal.	V 51	V 52	V 53	V 54	V 55	V 56	V 57	V 58	V 59	V 60	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-
	Fructuosa	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-
	Maltosa	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-
Observación de brotes germinativos en suero.	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	
Observación microscópica de levaduras.	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	-	+	-	-	+	+	-	+	-	-	
Muestra vaginal.	V 61 A	V 62 A	V 63 A	V 64 A	V 65 A	V 66 A	V 67 A	V 68 A	V 69 A	V 70 A	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-
	Fructuosa	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-
	Maltosa	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-
Observación de brotes germinativos en suero.	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	
Observación microscópica de levaduras.	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	+	-	-	+	+	-	+	+	+	-	
Muestra vaginal.	V 71	V 72	V 73	V 74	V 75	V 76	V 77	V 78	V 79	V 80	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	Fructuosa	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	Maltosa	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-
Observación de brotes germinativos en suero.	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
Observación microscópica de levaduras.	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
Muestra vaginal	V 31	V 32	V 33	V 34	V 35	V 36	V 37	V 38	V 39	V 20	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-
	Fructuosa	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-
	Maltosa	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-
Observación de brotes germinativos en suero.	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	
Observación microscópica de levaduras.	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	-	-	+	+	-	+	-	+	+	-	
Muestra vaginal.	V 91	V 92	V 93	V 94	V 95	V 96	V 97	V 98	V 99	V 100	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+
	Fructuosa	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+
	Maltosa	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+
Observación de brotes germinativos en suero.	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	
Observación microscópica de levaduras.	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	-	-	+	-	+	+	-	-	+	+	
Muestra vaginal.	V 101	V 102	V 103	V 104	V 105	V 106	V 107	V 108	V 109	V 110	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	-	-	-	-	-						
	Fructuosa	+	+	-	+	+						
	Maltosa	+	+	-	+	+						
	Sacarosa	-	-	-	-	-						
	Glucosa	+	+	-	+	+						
Observación de brotes germinativos en suero.	+	+	-	+	+							
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-							
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	+	+	-	+	+							
Observación microscópica de levaduras.	+	+	-	+	+							
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	+	+	-	+	+							
Muestra vaginal.	V 111	V 112	V 113	V 114	V 115							

Pruebas bioquímicas.	Galactosa		+					+			
	Fructuosa		+		+			+			
	Maltosa		+		+			+			
	Sacarosa										
	Glucosa		+		+			+			
Observación de brotes germinativos en suero.		+					+				
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.											
Clamidosporas en agar de harina de maíz.		+					+				
Observación microscópica de levaduras.		+		+			+				
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.		+		+			+				
Muestra de exudado faríngeo.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
	Fructuosa	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
	maltosa	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
Observación de brotes germinativos en suero.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Clamidosporas en agar harina de maíz.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
Observación microscópica de levaduras.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+
Muestra de exudado faríngeo.	F 11	F 12	F 13	F 14	F 15	F 16	F 17	F 18	F 19	F 20	

Pruebas bioquímicas.	Galactosa	+	1	1	+	+	+	1	1	1	1
	Fructuosa	+	1	1	+	+	+	1	1	1	1
	Maltosa	+	1	1	+	+	+	1	1	1	1
	Sacarosa	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
	Glucosa	+	1	1	+	+	+	1	1	1	1
Observación de brotes germinativos en suero.	+	1	1	+	+	+	1	1	1	1	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	+	1	1	+	+	+	1	1	1	1	
Observación microscópica de levaduras.	+	1	1	+	+	+	1	1	1	1	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	+	1	1	+	+	+	1	1	1	1	
Muestra de exudado faríngeo.	+	1	1	+	+	+	1	1	1	1	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-
	Fructuosa	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-
	Maltosa	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-
	Sacarosa	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-
Observación de brotes germinativos en suero.	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	
Observación microscópica de levaduras.	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	-	+	-	+	-	-	-	+	+	-	
Muestra de exudado faríngeo.	F 31	F 32	F 33	F 34	F 35	F 36	F 37	F 38	F 39	F 40	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
	Fructuosa	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
	Maltosa	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-
Observación de brotes germinativos en suero.	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	
Observación microscópica de levaduras.	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	
Muestra de exudado faríngeo.	F 51	F 52	F 53	F 54	F 55	F 56	F 57	F 58	F 59	F 60	

Pruebas. bioquímicas	Galactosa		+	+			+		+		
	Fructuosa		+	+			+		+		
	Maltosa		+	+			+		+		
	Sacarosa			+			+				
	Glucosa		+	+			+		+		
Observación de brotes germinativos en suero.		+	+						+		
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.							+				
Clamidosporas en agar de harina de maíz.		+	+						+		
Observación microscópica de levaduras		+	+				+		+		
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.		+	+				+		+		
Muestra de exudado faríngeo.	64	65	66	67	68	69	70	71	72	73	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
	Fructuosa	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
	Maltosa	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+
Observación de brotes germinativos en suero.	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	
Observación microscópica de levaduras.	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	+	-	+	+	
Muestra de materia fecal	C 1	C 2	C 3	C 4	C 5	C 6	C 7	C 8	C 9	C 10	

Pruebas bioquímicas	Galactosa	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
	Fructuosa	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
	Maltosa	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-
	Glucosa	-	+	-	-	-	+	+	-	+	-
Observación de brotes germinativos en suero.	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	-	+	-	-	-	+	-	-	+	-	
Observación microscópica de levaduras.	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	-	+	+	-	-	+	+	-	+	-	
Muestra de materia fecal.	C 21	C 21	C 23	C 24	C 25	C 25	C 27	C 28	C 29	C 30	

Galactosa										
Fructuosa										
Maltosa										
Sacarosa										
Glucosa										
Observación de brotes germinativos en suero.										
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.										
Clamidosporas en agar de harina de maíz.										
Observación microscópica de levaduras.										
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.										
Muestra de sangre.	H 1	H 2	H 3	H 4	H 5	H 6				

Pruebas bioquímicas	Galactosa										
	Fructuosa										
	Maltosa										
	Sacarosa										
	Glucosa										
Observación de brotes germinativos en suero:											
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud.											
Clamidosporas en agar de harina de maíz.											
Observación microscópica de levaduras.											
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.											
Muestra de líquido amniótico.		L 11	L 12	L 13	L 14						

Pruebas bioquímicas:	Galactosa	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
	Fructuosa	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
	Maltosa	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
	Sacarosa	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Glucosa	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-
Observación de brotes germinativos en suero.	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	
Crecimiento en la superficie de caldo de maltosa de Sabouraud,	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Clamidosporas en agar de harina de maíz.	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	
Observación microscópica de levaduras.	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	
Crecimiento en agar de maltosa de Sabouraud.	-	-	-	-	+	-	-	-	+	-	
Muestra cérvico - vaginal.	CV 1	CV 2	CV 3	CV 4	CV 5	CV 6	CV 7	CV 8	CV 9	CV 10	

RESULTADOS.

Se tomaron 247 muestras de los siguientes tipos:

- 115 muestras de exudado vaginal
- 69 muestras de exudado faríngeo
- 36 muestras de materia fecal
- 6 muestras de sangre
- 14 muestras de líquido amniótico
- 12 muestras cérvico-vaginales

Las muestras se tomaron de pacientes que acuden al laboratorio de bacteriología del hospital de la Mujer de la Secretaria de Salubridad y Asistencia, en personas de todas las edades, de sexo femenino a excepción de los coprocultivos que se realizarón a recién nacidos de ambos sexos.

De las 247 muestras tomadas 100 fuerón positivas para Candida, lo que da una relación de 40.48%.

De las 100 muestras positivas se obtuvo la siguiente relación para las diferentes especies.

- 89 de Candida albicans
- 5 de Candida stellatoidea
- 4 de Candida tropicalis
- 1 de Candida krusei
- 1 de Candida sp.

Las relaciones de los diferentes tipos de muestras son las siguientes:

Exudados vaginales.

Se analizaron 115 muestras de exudados vaginales obteniéndose 59 muestras positivas, lo que nos da una relación del 51.30% de Candida.

La relación de las diferentes especies identificadas respecto al número total de muestras es la siguiente:

No. total de muestras analizadas	No. de muestras	Porcentaje	Especie identificada
115	54	46.95%	<u>C. albicans</u>
115	4	3.50%	<u>C. stellatoidea</u>
115	1	0.86%	<u>C. tropicalis</u>

La relación de las diferentes especies identificadas respecto al número total de muestras positivas es la siguiente:

No. total de muestras positivas	No. de muestras	Porcentaje	Especie identificada
59	54	91.52%	<u>C. albicans</u>
59	4	6.77%	<u>C. stellatoidea</u>
59	1	1.69%	<u>C. tropicalis</u>

Exudados faríngeos.

Se analizarón 69 muestras de exudado faríngeo obteniéndose 25 muestras positivas, lo que nos da una relación del 36.23% de Candida.

La relación de las diferentes especies identificadas respecto al número total de muestras es la siguiente:

No. total de muestras analizadas	No. de muestras	Porcentaje	Especie identificada
69	22	31.88%	<u>C. albicans</u>
69	2	2.89%	<u>C. tropicalis</u>
69	1	1.44%	<u>C. stellatoidea</u>

La relación de las diferentes especies identificadas respecto al número total de muestras positivas es la siguiente:

No. total de muestras positivas	No. de muestras	Porcentaje	Especie identificada
25	22	88.00%	<u>C. albicans</u>
25	2	8.00%	<u>C. tropicalis</u>
25	1	4.00%	<u>C. stellatoidea</u>

Materias fecales.

Se analizarón 31 muestras de materias fecales obteniéndose 12 muestras positivas, lo que nos da una relación de 38.70% de Candida.

La relación de las diferentes especies de Candida respecto al número total de muestras es la siguiente:

No. total de muestras analizadas	No. de muestras	Porcentaje	Especie identificada
31	9	29.03%	<u>C. albicans</u>
31	1	3.22%	<u>C. tropicalis</u>
31	1	3.22%	<u>C. krusei</u>
31	1	3.22%	<u>C. sp.</u>

La relación de las diferentes especies identificadas respecto al número total de muestras positivas es:

No. total de muestras positivas	No. de muestras	Porcentaje	Especie identificada
12	9	75.00%	<u>C. albicans</u>
12	1	8.33%	<u>C. tropicalis</u>
12	1	8.33%	<u>C. krusei</u>
12	1	8.33%	<u>C. sp.</u>

Sangre.

Se analizarón 6 muestras de sangre, obteniéndose resultados negativos en el aislamiento.

Líquido amniótico.

Se analizarón 14 muestras de líquido amniótico, obteniéndose 1 muestra positiva, lo que nos da una relación de 7.14% de Candida.

La especie identificada fué Candida albicans.

Cervico-Vaginales.

Se analizarón 12 muestras cervico-vaginales obteniéndose 3 muestras positivas, lo que nos da una relación de 25% para Candida. La especie identificada en los tres casos fue Candida albicans.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES.

En las muestras analizadas, se observó una elevada incidencia de Candida albicans en relación con otras especies de Candida.

En las muestras positivas de exudado vaginal se presentó una incidencia del 91.52% de Candida albicans, cifra elevada en comparación con 6.77% e Candida stellatoidea y 1.60% de Candida tropicalis.

En los casos de faringitis, el porcentaje de Candida albicans fué del 88.00%, incidencia elevada comparada con un 8.00% de Candida tropicalis y un 4.00% de Candida stellatoidea que fueron encontrados.

En los casos de diarrea, se encontró una relación del 75.00% de Candida albicans, 8.33% de Candida tropicalis, - 8.33% de Candida krusei y 8.33% de Candida sp., mostrando-se nuevamente la elevada incidencia de Candida albicans.

En sangre, (hemocultivo), no se obtuvo desarrollo en agar maltosa de Sabouraud, probablemente esto se deba a -- que este medio requiere de una mayor concentración del carbohidrato, para un mejor desarrollo del microorganismo, ya que en el frotis directo se observarán abundantes levaduras.

En líquido amniótico, se obtuvo una muestra positiva, identificándose en este caso a Candida albicans. Este resultado probablemente es debido a una contaminación de la

muestra durante el paso del líquido por la vagina, ya que la muestra no fué tomada por punción sino hasta el momento del parto.

En las muestras cérvico-vaginales, se obtuvo una incidencia del 100% de Candida albicans en los casos positivos. Los resultados aquí no pueden considerarse representativos debido al bajo número de muestras analizadas.

De las muestras analizadas, el 40.48% fueron positivas para las diferentes especies de Candida, una incidencia lo suficientemente elevada como para indicar la necesidad de asociar a este género con estados patológicos, ya que en la actualidad, se considera en la mayoría de los casos como saprófito en sus diferentes reservorios, pero muy pocas veces como agente causal de una enfermedad.

Esta elevada incidencia de Candida asociada con estados patológicos, puede deberse al uso cada vez más frecuente que se hace de los antibióticos de amplio espectro, los cuales disminuyen la flora normal, permitiendo de esta manera, la proliferación de hongos saprofitos como este.

Por otro lado, los resultados obtenidos en la identificación de la especie de Candida que se encontraba en las diferentes muestras, nos indica que a pesar de ser Candida albicans la especie encontrada en un número mucho mayor, - la identificación plena de las demás especies, debe realizarse como rutina en un laboratorio clínico, ya que el proceso de identificación es sencillo y fácil de realizar.

Y, de esta manera, el químico presenta un reporte más preciso, ya que actualmente la mayoría de los laboratorios reportan Candida sp. ó monilias, sin indicar la especie de - que se trate.

La realización de estó, nos permitiría obtener un control más preciso de la incidencia de estas especies asociadas con enfermedades.

La identificación plena de Candida stellatoidea no se pudo realizar debido a que el método de identificación de Langeron y Guerra no es suficiente para su determinación, los resultados obtenidos fueron en base a la investigación bibliografica que nos indica la relación existente en los padecimientos a los cuales se les atribuye principalmente, que son; vaginitis y por contaminación, en faringe.

En este estudio, no se utilizarón los azúcares rafino sa y lactosa, el primero por su costo y el segundo por no encontrarse en el mercado, no obstante por ello se ignora la importancia de estos azúcares en el zimograma, principalmente la de la lactosa para la identificación de levaduras lactásicas como es Candida pseudotropicalis.

ANEXO

ANEXO I.

Fórmula y Preparación de Medios de Cultivo.

Agar de Biggy.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada.

Citrato de amonio y bismuto	5.
Sulfito de sodio	3
Dextrosa	10
Glicina	10
Extracto de levadura	1
Agar (desechado)	16

pH final - 6.8

Preparación.

Se hace una suspensión con 45 gramos del material deshidratado en un litro de agua destilada. Se calienta agitando frecuentemente y se hierve durante no más de 1 minuto. Se deja enfriar entre 45 y 50°C. Se agita circularmente para dispersar el material insoluble y se vierte en placas, usando unos 20 mililitros para cada placa. No se debe esterilizar en autoclave.

Agar maltosa de Sabouraud.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada.

Maltosa	40
Peptona polipeptona	10
Agar	15

pH final - 5.6

Preparación.

Se suspenden 65 gramos del material deshidratado en 1 litro de agua destilada. Se mezcla bien hasta obtener una suspensión uniforme. Se calienta agitando frecuentemente y se hierve durante 1 minuto. Se distribuye y esteriliza de 118 a 121°C y 15 libras de presión. Se debe evitar la exposición indebida al calor que facilita la hidrólisis de los componentes, quedando así blando el medio.

Agar de harina de maíz.

Composición.

El agar de harina de maíz consiste en una infusión de harina de maíz con infusión de agar. Si se desea puede añadirse dextrosa en una concentración de 2 gramos por litro de medio rehidratado, para aumentar la formación de micelio.

Preparación.

Se hace una suspensión con 17 gramos de material deshidratado en 1 litro de agua destilada. Se añade polisorbato 80 al 1% si se desea. Se calienta suavemente agitando frecuentemente. Se hierve durante 1 minuto. Se distribuye y esteriliza en autoclave a 121°C y 15 libras de presión durante 15 minutos.

Agar de Levine con EMB.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada.

Peptona	10
Lactosa	10
Fosfato dipostásico	2
Agar	15
Eosina	0.400
Azul de metileno	0.065

pH final - 7.1

Preparación.

Se suspenden 36 gramos del material deshidratado en -
1 litro de agua destilada, se mezcla y cuando la suspen-
sión es uniforme, se calienta agitando frecuentemente has-
ta hervir. Se esteriliza a 118°C y 12 libras de presión.

Medio de Haulin.

Fórmula en gramos por 15 litros de agua destilada.

Acido tánico	4
Nitrato de amonio	4
Fosfato de amonio	0.60
Carbonato de potásio	0.60
Carbonato de magnesio	0.40
Sulfato de amonio	0.25
Sulfato de zinc	0.07
Silicato de potásio	0.07
Sacarosa	70

pH final - 7.3

Agar de soya tripticase.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada.

Triptosa peptona	15
Phytone peptona	5
Cloruro de sodio	5
Agar	15

pH final - 7.3

Preparación.

Se suspenden 40 gramos del pólvoro en 1 litro de agua - destilada, se mezcla bien, se calienta con agitación frecuente, se hierve por 1 minuto. Cuando esta bien disuelto, se esteriliza en autoclave a 118°C y 12 libras de presión. Para el estudio de hemólisis en placas, se adiciona de 5 al 10% de sangre desfibrinada estéril.

Agar de zeína.

Preparación.

Se suspenden 16 gramos del material deshidratado en 1 litro de agua destilada, adicionar 16 mililitros de polisorbato 80 para promover la formación de clamidosporas, -- mezclar bien, calentar con agitación frecuente, hervir por 1 minuto y esterilizar a 121°C durante 15 minutos.

Clamidospora agar.

Fórmula por litro de agua destilada.

Sulfato de amonio	1 gramo
-------------------	---------

Fosfato monopotásico	1 gramo
Biotin	5 microgramos
Azul de tripén	0.1 gramo
polisacárido purificado	20 gramos
Agar	15 gramos

pH final - 5.1

Preparación.

Se suspenden 37 gramos del medio en 1 litro de agua -- destilada, se calienta a ebullición hasta disolución completa del medio, se vacia en tubos y se esteriliza en autoclave por 15 minutos a 15 libras y 121°C.

Las placas ó tubos de clamidospora agar, se siembran -- haciendo cortes al agar a lo largo de la línea de inoculación, estas se incuban a 25°C por 2 a 4 días, después son examinadas microscópicamente. La formación de clamidosporas se lleva a cabo mejor bajo una leve reducción de oxígeno. Las temperaturas superiores a los 25°C no permiten la formación de clamidosporas. Las clamidosporas selectivamente van a absorber el colorante de azul de tripán, por lo que los filamentos se observan coloreados de azul.

Agua de papa para clamidosporas.

Preparación.

Se pesan 20 gramos de pulpa de papa en 1 litro de agua corriente, se deja macerar durante 1 hora y se hierve por 5 minutos. Se filtra en algodón, se reparte en tubos

y se esteriliza en autoclave. En este medio se obtienen clamidosporas de Candida albicans a las 24 horas de incubación a 37°C.

Base agar telurito tripticase.

Fórmula en gramos por litro de agua destilada.

Peptona tripticase	10
Tiotone peptona	10
Cloruro de sodio	5
Dextrosa	2
Agar	20

pH final - 7.5

Preparación.

Se suspenden 47 gramos de pólvoro en 1 litro de agua — destilada. Se mezcla bien, se calienta con agitación frecuente, se hierve por 1 minuto y se esteriliza a 118°C y - 12 libras de presión durante 15 minutos.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA.

Alvarez Chacón Rubén., Lara Aguilera Ramón.; Frecuencia-de micosis en enfermos con problemas dermatológicos. *Dermatología (Mex)*. 16: 327-330; 1972.

Bryan Arthur H., Bryan Charles A., y Bryan Charles G.; *Bacteriología*. 6a. edición. México, Compañía Editorial Continental, S. A. 1974.

Casnauf J., de Loore F., Dhondt F., Deulieger H., Poot J., Van Den Bon F., y Van Eyen M.; El tratamiento de la Candidosis oral de los niños con gel de miconazol. *Mykosen*. 23 (2): 75-78; 1980.

Conant N. F., Smith D. T., Baker R. D., and Callaway D. L. *Micología*. 3a. edición. México, Nueva Editorial Interamericana, 1972.

Chester W. E., *Medical Mycology*. 3rd. ed. Philadelphia, - Lea & Febiger Ed., 1977.

Davis B. D., Dulbecco R., Elsen H. N., Ginsberg H. S., y Wood W. B.; *Tratado de Microbiología*. 1a. Ed. Barcelona - (España), Salvat Editores, S. A., 1975.

Divo Alejandro.; Microbiología Médica. 3a. ed. México, Nueva Editorial Interamericana S. A., 1977.

Goldstein E., and Hoeprich I. D.: Problems in the diagnosis and treatment of systemic candidiasis. J. Insect. Dis. 125: 190: 1972.

Gonzalez Ochoa A. Dr., Alvarez Morales H. Dr.: Aislamiento de Candida en el recién nacido. Rev. Invest. Salud Publica (México), 28 (3). 247-254: 1968.

Gonzalez Ochoa A., Orozco Victoria C. y Bravo-Becherelle - M. A.; El papel de las levaduras del género Candida como patógeno único, patógeno asociado, y saprofita. Rev. Inst. Salub. y Enferm. trop. (México), 24 (1-4) 89-97; 1964.

Jawetz E. Dr., Melnick J.L. Dr., Adelberg E. A.; Manual de Microbiología Médica. 7a. Ed. México, Ed. El Manual Moderno S. A.; 1977.

López Martínez R., Macotela Ruiz E., Capellin Caya E.: Valoración de diferentes reacciones inmunológicas en pacientes con candidiasis. Medicina cutánea: 4:299-304; 1971

Loxco Z., Abreva., González L., y Vidal R: Hongos mas frecuentes durante los años de 1975-1976 en la sección de micología. Rev. Cub. Hig. Epid 17: 249-254; 1979.

Macdonald F. PHD., and Odds C.F. PHD.: Purified Candida albicans Proteinase in the serological diagnosis of systemic candidosis. *Jama* 243; 2409-2411:1980.

Manual de procedimientos de laboratorio y de productos BBL. Ed. Paula, Rohde B. A. Director de servicios técnicos, 1974.

Martuscelli A., López R., and Thomas-Campuzano M. A.; Candidosis bucal en lactantes con enfermedad diarréica. *Gaceta médica de México* 106: 309-320; 1973.

Pelczar M. J., Reid R. D., y Chan E. C. S.: *Microbiología*. 4a. ed. México, Ed. McGraw-Hill, 1982.

Skinner C. E. and Fletcher D. W.: A review of the genus -- Candida. *Bact. Review*, 24: 397; 1960.

Teger D. R., Slater D. N., Goepel J. R., and Underwood J. C. E.: Sistemic candidiasis complicating acute Hepatic Failure in patients treated with cimetidine. *The Lancet* : 837 - 838; 1981.

Ryan M. M., Olsen., and Rogers A.; Recurent vaginal candidiasis. *Jama* 238: 1836-1837; 1977.

Velazco Castrejón O., y Tay Zavala J.: *Introducción a la Micología Médica*. 1a. Ed. México. Francisco Mendez Cervantes editor. 1978.

Zapater R.; Introducción a la Micología Médica. 1a. ed.
Buenos Aires Argentina. Ed. El Ateneo. 1965.