

Identificación de especies de levaduras del género *Candida* aislados de exudados vaginales de pacientes en el Hospital Materno Germán Urquidí

Identification of *Candida* species isolated from vaginal exudates of patients at Hospital Materno Infantil Germán Urquidí

Paola Janeth Villarroel Rodríguez^{1,a}, Adriana Concepción Santa Cruz Rodríguez^{2,b}

Resumen

Objetivos: el propósito de este estudio es identificar las especies de levaduras del Género *Cándida*. **Métodos:** con este fin se realizó la identificación de 103 cepas de levaduras aisladas a partir de exudados vaginales de pacientes atendidos en Consulta Externa del Hospital Materno Infantil Germán Urquidí entre Febrero - Septiembre 2009, para su identificación, se utilizaron métodos microbiológicos convencionales como: tubo germinativo, producción de clamidosporas, formación de micelio y/o pseudomicelio, crecimiento a 45°C, ureasa y otros métodos más específicos como el CHROMagar *cándida* y el auxograma (API ID32C). **Resultados:** a partir de los datos obtenidos se determinó que el porcentaje de *Cándida albicans* fue de 62,1%(n=64), seguido de *Cándida glabrata* 34,9% (36) y *Cándida krusei* 3% (n=3). **Conclusiones:** realizando un análisis sobre los datos obtenidos debe considerarse que al momento de hacer la interpretación de las pruebas convencionales debe considerarse que las especies no albicans pueden dar resultados similares a *Cándida albicans* y que si bien es la especie aislada con mayor frecuencia de secreciones vaginales, no es despreciable el aislamiento de las especies "no albicans".

Palabras claves: hongos, levaduras, candidiasis.

Abstract

Objectives: the purpose of this study is to identify the *Candida* species. **Methods:** we made the identification of 103 strains of yeasts isolated from vaginal swabs of patients treated at Hospital Materno Infantil Germán Urquidí from February to September 2009, for identification, conventional microbiological methods were used as germ tube, production of *chlamydo*spores, mycelium formation and / or pseudomycelia, growth at 45 ° C, urease and other more specific methods such as CHROMagar *candida* and auxograma (API ID32C). **Results:** based on the data obtained it was determined that the percentage of *Candida albicans* was 62.1% (n = 64), followed by *Candida glabrata* 34.9% (36) and *Candida krusei* 3% (n = 3). **Conclusions:** if we perform an analysis of the data should be considered when interpreting conventional tests that non-albicans species may give results similar to *Candida albicans* and if it is the most frequently isolated species from vaginal secretions, is not negligible isolation of "non-albicans" species.

Keywords: fungi, yeasts, candidiasis.

La candidiasis vulvovaginal (CVV), es causada generalmente por levaduras del género *Cándida* que forman parte de la flora comensal de los tractos gastrointestinal, genital, respiratorio, de la piel y mucosas del ser humano^{1,2}. Suele ser de origen endógeno, por modificación del ecosistema microbiano como consecuencia de un tratamiento con antibiótico o por disminución de las defensas inmunitarias del huésped.

Tradicionalmente se ha considerado que no era necesario aislar e identificar a *Cándida spp* de pacientes con candidiasis vulvovaginal ya que *Cándida albicans* constituiría la etiología en el 85 al 90% de los episodios³. Sin embargo en la última década la literatura extranjera ha informado un aumento progresivo en el aislamiento de especies de *Cándida* "no albicans" que en algunos lugares representaría más del 30 % de las levaduras aisladas¹.

Sobel y Brooks^{4,5}, mencionan que del 85 al 90% de hongos aislados de la vagina corresponden a *Cándida albicans*, el resto se debe a especies de *Cándida spp* entre las cuales *Torulopsis glabrata*, *Cándida tropicalis* y *Cándida parapsilosis* son las más

comunes. De la Parte et al⁶, en el Brasil indican que *Cándida albicans* se aísla en un 65,4 a 86%⁷ y ocasionalmente se reportan otras especies como *Cándida Krusei*, *C. guilliermondii*, *C. luitaniae*.

En otro estudio realizado por García et al³ en Argentina, la prevalencia de *Cándida spp* en muestras vaginales es *Cándida albicans* (90,4%), *Cándida glabrata* (6,3%), *Cándida parapsilosis* (1,1%), *Cándida kefir* (1,1%), especies no identificadas (1,1%). Lo que indica que si bien, *Cándida albicans*, es la especie que se aísla con mayor frecuencia del tracto vaginal de mujeres con vulvovaginitis, en los últimos años se ha descrito el incremento en el aislamiento de especies "no albicans", las mismas que presentan alta resistencia a los antimicóticos de uso frecuente. Por lo que, se hace necesario llegar a identificar la especie para instalar el tratamiento específico además que estudios de vigilancia epidemiológica han indicado la importancia de conocer las variaciones geográficas en la distribución de especies de *Cándida* esto debido a en muchas regiones hay poca evidencia de un aumento significativo de infección de *Candidas* no albicans⁸.

No obstante en nuestro medio son pocos los laboratorios que identifican especies de *Cándida*, por lo que no hay estudios sobre las especies de *Cándida* circulantes en Bolivia lo cual motiva a la realización de este trabajo. Que pretende

¹Clínica Los Olivos, Cochabamba, Bolivia

²Facultad de medicina, Universidad Mayor de San Simón, Cochabamba, Bolivia.

^aBioquímica, magister en microbiología clínica; ^bDocente microbiología

*Correspondencia a: Paola Janeth Villarroel Rodríguez.

Correo electrónico: pelusa1290@hotmail.com

Recibido el 17 de octubre de 2011. Aceptado el 21 de noviembre de 2011

identificación de las especies de levaduras del género *Cándida* aisladas de exudados vaginales de pacientes atendidos en Consulta Externa del Hospital Materno Germán Urquidí de Cochabamba durante el periodo Febrero a Septiembre 2009.

Materiales y métodos

Se analizaron 103 aislamientos de cepas de levaduras procedentes de muestras de secreción vaginal de mujeres que asistieron a Consulta Externa del Departamento de Ginecología y Obstetricia del Hospital Materno Germán Urquidí de Cochabamba de Febrero a Septiembre del 2009. Se empleó una cepa de *Cándida albicans* ATCC 90028, estableciendo un protocolo de identificación en base a criterios bioquímicos (Crecimiento y color de colonias en el medio CHROMagar candida, Auxograma para la asimilación de carbohidratos API 32 C (BioMerieux), ureasa y morfológicos (Observación Macroscópica, Observación Microscópica, Prueba Tubo Germinativo, Producción de Clamidosporas, Formación del micelio y pseudomicelio, Crecimiento a 45°C).

Para el análisis de datos se utilizó el programa Microsoft® Excel 2007 y SPSS® 11.5 para las proporciones.

Resultados

Durante el periodo de estudio, se trabajó con un total de 103 aislamientos de cepas de levaduras obtenidas a partir de exudados vaginales identificadas por métodos microbiológicos convencionales como: tubo germinativo, producción de clamidosporas, formación de micelio y/o pseudomicelio, crecimiento a 45°C, ureasa y otros métodos más específicos como el CHROMagar candida y el auxograma (API ID32C). A partir de los datos obtenidos se determinó que el porcentaje de *Cándida albicans* fue de 62,1%(n=64), seguido de *Cándida glabrata* 34,9%(36) y *Cándida krusei* 3% (n=3). La frecuencia relativa de distribución de las 103 cepas de *Cándida* fue: 62,1%(n=64) *Cándida albicans* y 37,9%(n=39) especies "no albicans". Entre estas últimas 34,9%(n=36) corresponden a *Cándida glabrata* y 3% (n=3) a *Cándida krusei* (tabla 1).

Discusión

La identificación de las especies de *Cándida* en los laboratorios de rutina no es tarea fácil, puede realizarse aplicando diferentes técnicas convencionales o técnicas más específicas actualmente disponibles de manera comercial. Como pudimos evidenciar en el presente trabajo, no todas las cepas de *Cándida* presentan características macroscópicas típicas. De 103 cepas aisladas, una siendo *Cándida*, presentó características diferentes, se observó rugosa y seca lo que puede conducir a errores en la identificación. Al respecto algunos autores indican que estos caracteres pueden variar de acuerdo a la fuente de carbono de cada especie⁹.

En cuanto a las otras pruebas de identificación, se vio que el 96,9% (n=62) de los aislados de *Cándida albicans* produjo clamidosporas, el 84,4 % (n=54) fue productor de tubo germinativo, 100% (n=64) formó micelio y pseudomicelio, 92,2%(n=59) creció a 45 °C y 100% (n=64) dio la prueba de la ureasa negativa. Por lo tanto, el empleo de solo una de las

Especie	Número de aislamientos
<i>Cándida albicans</i>	64
<i>Cándida glabrata</i>	36
<i>Cándida krusei</i>	3
Total	103

Tabla 1. Distribución de especies de *Cándida* aisladas de secreciones vaginales

pruebas, como la del tubo germinativo no permite la identificación de *Cándida albicans* en un 15,6 % (n=10) de los aislados. Estas características coinciden con algunos autores que reportan resultados similares^{1,6}.

Tradicionalmente se emplean estas pruebas convencionales para diferenciar *Cándida albicans* de otras especies, sin embargo, en el presente estudio, observamos que algunas cepas no albicans pueden dar resultados similares a la primera. Así 44,4% (n=16) de *Cándida glabrata* produjo clamidosporas, 33,3% (n=12) fue productor de tubo germinal, 86,1% (n=31) creció a 45°C y 100% (n=36) de las cepas formó micelio y dio ureasa negativa. El 100%(n=3) de *Cándida krusei* produjo clamidosporas y creció a 45°C. Solo el 33,3%(n=1) fue productor del tubo germinativo. Lo que sugiere el uso de otras pruebas complementarias más específicas para diferenciar especie.

Referente a los métodos de identificación bioquímicos, el medio CHROMagar *Cándida*®. Según Odds et al, la sensibilidad y especificidad para la identificación de *C. albicans*, y *C. krusei* es del 98%¹¹; nos permitió identificar a *Cándida albicans* por el color verde de las colonias y *Cándida krusei* por las colonias de color rosa claro, ambas especies identificadas y confirmadas por el auxograma.

Además este medio de cultivo permitió diferenciar colonias de color blanco las mismas que corresponden a *Cándida glabrata* según el auxograma y las otras pruebas convencionales.

Este último fue un hallazgo muy interesante porque la literatura en general indica que *Cándida glabrata* forma colonias violetas⁹, pero en el medio que empleamos crecieron blancas, resultados coincidentes con los de Justin Bishop et al¹⁰ quienes el año 2008 reportan que algunas especies de *Cándida glabrata* y otras relacionadas dan lugar a colonias blancas en CHROMagar¹⁰.

La distribución de especies de *Cándida* varía en diferentes áreas geográficas lo que puede estar condicionado por varios factores. Según Pfaller et al, el aumento de *Cándida glabrata* en algunas regiones se puede explicar por el uso profiláctico de fluconazol a bajas dosis (<400mg/día) lo que selecciona a dicha especie. Por el contrario, el aislamiento frecuente de *Cándida parapsilosis* en otras áreas geográficas puede reflejar problemas de cuidado inadecuado de los catéteres⁷. De ahí que es imprescindible hacer estudios regionales para conocer la frecuencia y el comportamiento a nivel regional.

Muchos estudios se han realizado en cuanto a las especies de *Cándida* aisladas de secreciones vaginales. Como mencionamos antes, De la Parte et al⁶, indican que *Cándida albicans* se aísla en un 65,4 a 86 % y ocasionalmente se reportan otras especies como *Cándida Krusei*, *C. guilliermondii*, *C. luitaniae*.

En nuestro estudio, encontramos resultados similares ya que del total de cepas aisladas 62,1 % corresponde a *Cándida albicans*, seguido de *Cándida glabrata* con 34,9% y 3% de *Cándida Krusei*.

Este último hallazgo confirma la preocupación de que el aislamiento de especies de *Cándida* “no albicans” está incrementando, aunque *Cándida albicans* siga siendo la especie predominante^{1,2}. El interés por esa frecuencia de especies es mayor porque se ha encontrado alta resistencia a los antimicrobicos entre las cepas “no albicans”.

Este estudio nos permitió concluir que no se puede llegar a la identificación de todas las especies de *Cándida* solo con pruebas convencionales, y que al realizar la identificación se debe tener mucho cuidado con la interpretación de las pruebas convencionales, ya que especies no albicans pueden dar

resultados similares a *Cándida albicans*.

En relación al sistema CHROMagar *Cándida*® se puede concluir que no permite una identificación definitiva de algunas especies como *C. glabrata*, pero si posibilita discriminar con mucha fiabilidad las especies más frecuentes como *Cándida albicans*, este método es de menor costo en relación a los microsistemas comerciales, es rápido y simple, a diferencia de las laboriosas pruebas bioquímicas utilizadas para la identificación de especies de *Cándida*.

Y que si bien *Cándida albicans* es la especie aislada con mayor frecuencia de secreciones vaginales de pacientes atendidos en consulta externa del Hospital Materno Germán Urquidí no es despreciable el aislamiento de las especies “no albicans”.

Conflictos de interés: los autores declaran no tener conflictos de interés en la relacionados a este artículo.

Referencias bibliográficas

1. Gatica J., Goic I, Martínez M.Reid Utilidad del agar Cromocandida para el diagnostico diferencial de *Cándida* spp aisladas de muestras vaginales. Rev Chil Obstet Ginecol 2002; 67: 300-304
2. Rojas F, Gómez V, Sosa M. Quevedo M, Mangiaterra M, Prevalencia de especies de *Cándida* en vulvovaginitis de embarazadas Proyecto Universidad Nacional del Nordeste Chaco Argentina 2006: 669-670
3. García H. García S. Copolillo E. Eliseth C., Barata A. Prevalence of vaginal candidiasis in pregnant women. Identification of yeast and susceptibility to antifungal agents. Rev. Argentina de Microbiología 2006; 38: 9-12
4. Sobel JD. Candidal vulvovaginitis. Clin Obstet Gynecol 1993; 36(1): 153-65.
5. Brooks G, Jawetz E. *Cándida* y levaduras relacionadas. Micología Médica Edición Editorial el Manual Moderno S.A.de CV1992: 349-351
6. De la Parte A, Mendoza M, Brito A, Identificación de especies de levadura del Género *Cándida* provenientes de pacientes con vulvovaginitis Art. Fac. Medicina Universidad Central de Venezuela Abril – Junio 2006: 27
7. Sandoval L Sensibilidad de *Cándida* en pacientes previamente tratados con óvulos de nistatina y/o fluconazol en la consulta externa de Ginecología y Obstetricia del Hospital General San Juan de Dios Guatemala 2001; 1-58
8. Sobel, J.D., S. Faro, R.W Force, B. Foxman, W.J. Vulvovaginal candidiasis epidemiologic, diagnostic and therapeutic consideration. Am. J Gynecol 1998; 178:203-211)
9. Vargas J. Texto de Micología “Micosis Humanas “Universidad Autónoma Gabriel René Moreno Dpto. de Postgrado Pag.22-30
10. Bishop,JA.,Chase N., Lee R., Kurtzman CP, MerzW. Production of White Colonies on CHROMagar *Cándida* Medium by Members of the *Cándida Glabrata* Clade and Other Species with Overlapping Phenotypic Traits. J Clin Microbiol 2008; 46 (10): 3498-3500
11. De Late SantAna P, Pipolo Milan E, Martínez R, Queiroz-Telles Multicenter brazilian study of oral *cándida* species isolated from Aids patients. Mem Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro 2002; 97(2):253-7.