

Identificación de las especies del género Candida en gestantes con candidiasis vulvovaginal que acuden al Hospital Gineco-obstétrico Dr. Jaime Sánchez Porcel Sucre – 2011

María Andrade

M. Andrade

Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca, Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas, Calle Dalence Nº 51, Sucre- Bolivia.

M. Ramos, J. Pizarro, M. Mojica, N. Pereira, M Solis (eds). Tópicos Selectos de Química -©ECORFAN-Bolivia. Sucre, Bolivia, 2014.

Abstract

The present study aimed to systematize the information on the identification of *Candida* species Dei vulvovaginal candidiasis in pregnant women attending the hospital obstetric Gynecology Dr. Jaime Sánchez Porcel de Sucre 2011.

Methods and techniques were applied properly, and then it was presented and analyzed the results obtained by applying diagnostic techniques in the identification of *Candida* species in pregnant women with vulvovaginal candidiasis graphical and percentage terms were implemented.

5 Introducción

La candidiasis es una infección que puede ser aguda, sub-aguda o crónica pudiéndose localizar en las mucosas, uñas, pulmones o riñones así también como ocasionalmente provocar endocarditis, meningitis y septicemia. El agente etiológico es un hongo de género *Candida*, siendo la especie más frecuente *Candida albicans*. Las otras especies de este género tales como la *Candida tropicalis*, *C. krusei*, *C. guilliermondi*, *C. Kéfir*, *C. parapsilosis*, *C. viswanathii*, etc. pueden también producir infección. Estas levaduras están ampliamente distribuidas en el medio ambiente, pudiendo la *Candida albicans* ser encontradas no solo en el agua y objetos contaminados por material orgánico de hombres y animales.

Las micosis invasoras son cada vez más frecuentes en la práctica clínica, afectando especialmente a sujetos con grados variables de inmunocompromiso por causas como infección por el VIH y enfermedades hematológicas malignas. Además se presentan en forma secundaria a tratamientos agresivos como cirugías mayores, terapia anti-retroviral, quimioterapia, trasplante de precursores hematopoyéticos y tratamientos antimicrobianos de amplio espectro. Estos tratamientos tienen como consecuencia que un número importante de pacientes sobrevive a su enfermedad de base pero, a su vez, son más susceptibles a infecciones por agentes oportunistas. Es así como un número creciente de hongos, que antiguamente se consideraban no patógenos, se han identificado como agentes causales de infecciones en este tipo de hospedero las infecciones invasoras por hongos son cuadros difíciles de reconocer, ya que tanto los síntomas como los signos clínicos son, a menudo, inespecíficos.

La candidiasis, conocida también como candidiasis vulvo-vaginal o CVV, es una infección micótica común que ocurre cuando hay sobre crecimiento del hongo llamado *Candida*. La *Candida* siempre está presente en el organismo en pequeñas cantidades. No obstante, cuando ocurre un desequilibrio, por ejemplo, cambios en la acidez normal de la vagina o cambios en el equilibrio hormonal, la *Candida* puede multiplicarse. Cuando esto ocurre, aparecen los síntomas de la candidiasis.

La candidiasis vulvo-vaginal es la segunda causa más común de infección vaginal. Afecta principalmente a mujeres entre 20 y 40 años.

El laboratorio de micología debe apoyar al médico clínico en el proceso diagnóstico de las infecciones fúngicas invasoras, disponiendo de técnicas adecuadas, rápidas y confiables, colaborando en el inicio de terapias antimicóticas apropiadas y precoces.

El aporte del trabajo de investigación, brindará datos valiosos del estudio e identificación hongos del género *Candida* con métodos más actualizados, la importancia se dará por el estudio técnico del objeto de estudio, para demostrar sus características específicas.

5.1 Formulación del Problema

¿Cuáles serán las especies del género *Candida* en gestantes con candidiasis vulvo-vaginal que acuden al Hospital Gineco-Obstétrico de la ciudad de Sucre 2011?

Objeto de Estudio

Hongos del género *Candida*.

Campo de Acción

Micosis vulvo-vaginal causada o producida por levaduras del género *Candida* en gestantes

5.2 Objetivo General

Identificación de las especies del género *Candida* en gestantes con candidiasis vulvo-vaginal que acuden al hospital Gineco-Obstétrico de la ciudad de Sucre 2011.

Objetivos Específicos

- Determinar el porcentaje de micosis vulvo-vaginal en las gestantes que asisten a sus controles pre-parto
- Comprobar si la *Candida Albicans* es la más frecuente en las gestantes analizadas.
- Evaluar el comportamiento de los hongos del género *Candida* en diferentes procedimientos laboratoriales
- Establecer las particularidades de las diferentes especies de hongos del género *Candida*.

5.3 Hipótesis

La especie más común del género *Candida*, en gestantes con candidiasis vulvo-vaginal que acuden al Hospital Gineco-Obstétrico, es la *Candida Albicans*.

5.4 Marco teórico

Caracteres generales y bases para la clasificación del género *Candida*

Desde los albores de la humanidad el hombre ha estado relacionado con los hongos, beneficiándose de ellos en unos casos, en otros siendo afectado ya sea directa o indirectamente por los daños que provocan en animales, plantas o en alimentos almacenados (Bennett & Klich; Quindós,).⁽⁶⁾

Galvada y Ruiz plantea que desde finales del siglo pasado se ha evidenciado un aumento de las enfermedades fungosas. Estando esto estrechamente vinculado a cambios producidos en la práctica médica como son: uso de fármacos que producen inmunosupresión (quimioterapia contra el cáncer, tratamiento con esteroides y tratamiento con inmunosupresores en pacientes con transplantes de órganos), uso frecuente y a veces indiscriminado de antibióticos de amplio espectro que elimina la flora normal y el uso de catéteres intravenosos (Sevilla et al.; Santos et al.; Marr et al.,).⁽⁶⁾

Además, a estos cambios se une la aparición de enfermedades infecciosas que provocan inmunosupresión crónica como el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Todo lo anterior ha hecho que los hongos, sean considerados en la actualidad, patógenos de importancia.

Dentro de las micosis, las producidas por levaduras del género *Candida* son las de más frecuente presentación contando con un gran número de formas clínicas dividiéndose en sistémicas y superficiales (rueda,).⁽⁶⁾

Tanto las candidiasis sistémicas como las superficiales tienen una gran importancia. Las primeras por involucrar varios órganos de diferentes sistemas, poniendo en riesgo la vida del paciente; mientras que las segundas por la gran cantidad de consultas médicas que genera.⁽⁶⁾

El tratamiento de estas afecciones en ocasiones se ve dificultado por la aparición de resistencia que son capaces de generar estos microorganismos a los antifúngicos de uso frecuente y por la relativamente alta toxicidad de los antifúngicos disponibles en el mercado.⁽⁶⁾

El propósito de esta revisión es brindar la información esencial sobre las levaduras del género *Candida*, importancia médica de las candidiasis, así como el tratamiento de estas.

La evaluación que es el resultado del grupo de los caracteres obtenida por las pruebas cuantitativas y cualitativas en el estudio de levaduras permite la selección de las especies de los diferentes géneros. De esta manera, la tipificación de las cepas se obtuvo a través del conjunto de las características morfológicas, fisiológicas, bioquímicas, genéticas, tipo de reproducción, aspectos macro-micro morfológicos de los cultivos, exigencias nutricionales, osmofilia, reacciones con los sueros específicos, etc.⁽⁶⁾

Las afinidades taxonómicas de las especies de *Candida* con otras levaduras han sido esclarecidas de los estudios más necesarios de sus ciclos de vida. Lacaz, C. da S.⁽⁷⁾

Por consiguiente; la identificación de las levaduras por los métodos convencionales es relativamente morosa. Varias técnicas se propusieron para la identificación rápida de las especies del género *Candida*, sobre todo *Candida albicans*, por ser esta la que determina mayor número de infecciones, tanto en el hombre como en los animales, siendo considerada la más patógena de todas.

Varios esquemas han sido formulados para hacer posible el diagnóstico rápido de *C. albicans* y de las demás especies del género, de interés médico. Los medios selectivos para la detección de clamidosporas fueron rescatados por varios autores.

Las propiedades de filamentación de *C. albicans* presentes en suero o plasma humano o de animales fue estudiada por Johnson⁽⁸⁾; Mackenzie⁽⁹⁾; Reynolds Y Braude⁽¹⁰⁾, en la albúmina del huevo; por Buckley y Van Uden⁽¹¹⁾, y en el substitutos del suero sanguíneo para Ahearn,⁽¹²⁾ Joshi y col.⁽¹³⁾, con el objetivo de facilitar el diagnóstico clínico.

Así mismo, el estudio sistemático de las características macro-micro morfológicas y forma de reproducción (sexuada y asexuada) se vuelve posible para separar los géneros, normalmente, la *C. albicans* es un comensal del tracto gastrointestinal y genito-urinario del hombre, siendo el más frecuente agente etiológico entre las infecciones causadas por las levaduras de este y de otros géneros.

El origen de algunas especies de *Candida* estudiadas por Van Uden & Buckley⁽¹¹⁾, Gentles & La Touche⁽¹⁴⁾ y Joly⁽¹⁵⁾ puede verificarse en la relación que continuación se menciona:

- *Candida albicans*: piel, uñas, sarro, tracto digestivo de las ovejas, plantas y hojas de té.
- *C. stellatoidea*: secreción vaginal.
- *C. krusei*: sarro, uñas, heces, leche (mastitis bovina); aire, gaviotas de mar, salmuera de conservas, cacao fermentado, uvas, guayabas.
- *C. guilliermondii*: tracto digestivo de bovinos, caballos, aves, agua de mar, cebolla, cuero de animales y aire.
- *C. tropicalis*: material clínico humano, leche (mastitis), camarones, leche fermentada (kéfir), piña.
- *C. pseudotropicalis*: sarro, pus, uñas, los productos lácteos (queso, crema), leche (mastitis bovino).
- *C. parapsilosis*: material clínico humano, animales (cerdos y caballos), insectos, hojas de té, pepino en conserva y madera.
- *C. humicola*: material clínico humano, tierra del bosque, árboles, champiñones macroscópicos y sapos.
- *C. viswanathii*: líquido cefalorraquídeo (meningitis), sarro.
- *C. zeylanoides*: material clínico humano.
- *C. vini*: vino, cerveza.
- *C. rugosa*: heces de humano y de bovino; mantequilla, margarina y agua de mar.
- *C. curvata*: sarro, heces y orina de humano y de bovino (útero de la vaca).
- *C. norvegensis*: sarro, bilis, infiltrado abdominal, tracto digestivo del cerdo y mantequilla rancia.
- *C. bovina*, especie descrita por Van Uden & Carmo-Sousa ⁽¹⁶⁾ aislada de materia fecal de un bovino, presenta especificidad alta a este hospedero. Sin embargo, es menos específico en otros animales, han sido aislados también de cerdo, pavos y roedores. *C. bovina* crece lentamente a 20° C.
- *C. bovina* se transfirió para el género *Torulopsis* Berlese como *Torulopsis bovina* Van Uden & Carmo-Sousa ⁽¹⁶⁾.

El nombre genérico *Candida* fue introducido por Berikhou ⁽¹⁷⁾ para un grupo de levaduras anascosporadas que estaban, en ese momento incluidas en el género *Monilia* Van Uden & Buckley,

Algunas designaciones han sido impresas para *Candida albicans* en otras especies del género, pero la preferencia del nombre para *Candida* se dio por Langeron & Guerra ⁽¹⁹⁾. Diddens & Lodder ⁽²⁰⁾ y Lodder & Kreger-Van rij ⁽²¹⁾.

El nombre *Candida*, fue aceptada por los especialistas en levaduras, se legalizó por el "IX Congreso Internacional de Botánica", realizado en Montreal en 1959.

Según Van Uden & Buckley ⁽¹⁸⁾, en el diagnóstico del género *Candida* Berkhout ⁽²²⁾ las células son globosas u ovoides, cilíndricas o prolongadas, a veces irregularmente formadas, normalmente son ovaes apiladas o en forma de frasco.

La reproducción normalmente es por el brotamiento multipolar; células con el brotamiento aparentemente bipolar, normalmente no crecen con la base ancha.

La formación de pseudomicelio se encuentra en la mayoría de las especies y variedades. Frecuentemente el pseudomicelio se diferencia en pseudohifa y blastoforos, pudiendo formarse con verdadero micelio y clamidiosporos. Los artrosporos, ascosporos, teliosporos y balistosporos no son encontrados. Lacaz, C. da S. ⁽⁷⁾.

En cuanto al metabolismo, muchas especies de *Candida* presentan habilidades fermentativas y oxidativas, mientras que otras son estrictamente oxidativas. Conforme Silva-Hutner ⁽²³⁾, todos los carbohidratos fermentados son asimilados, sin embargo no todas las especies con habilidades asimilativas son también fermentativas.

En el género *Candida* están incluidas 81 especies de estas solo un grupo presentan positividad a la prueba de asimilación del nitrato de potasio, dicha prueba las separa en dos grupos, siendo 20 especies positivas y 61 negativas de asimilación de la sustancia ya referida. Las especies que pertenecen al género mencionado también diferenciadas de las pruebas de fermentación y asimilación de los carbohidratos, alcoholes etc., según Van Uden & Buckley ⁽¹⁸⁾. Barnett & Pankhurst ⁽²⁴⁾ ellos crearon, para todos los géneros de levaduras, nuevas claves dicotómicas de clasificación, bien como pruebas de fermentación y asimilación de los azúcares, del nitrógeno y de otros substratos para diferenciar las especies del género *Candida*.

Según McGinnis ⁽²⁵⁾ 14 especies consideradas de interés médico como de *Candida albicans*, *C. stellatoidea*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. tropicales*, *C. pseudotropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. húmica*, *C. vini*, *C. viswanathii*, *C. zeylanoides*, *C. arrugado*, *C. curvata* y *C. norvegensis* no asimilan el nitrato de potasio.

Para identificar las levaduras, Buckley ⁽¹¹⁾ considera como el elemento esencial los criterios siguientes:

Producción de pseudomicelio y/o micelio verdadero:

- a) Fermentación de glucosa, maltosa, sacarosa y lactosa;
- b) Asimilación de glucosa, maltosa, sacarosa, lactosa y nitrato de potasio.

En términos de metabolismo, Vander Walt ⁽²⁶⁾ marca como fundamentos las características fisiológicas para el diagnóstico de las levaduras, siendo más útil a la taxonomía aquella así mismo asociadas:

- a) La utilización de las fuentes de carbono y de nitrógeno;
- b) Exigencias nutricionales para el cultivo (adición suplementaria de nutrientes);
- c) Crecimiento a temperaturas elevadas;
- d) Desarrollo en medios especiales que contienen alto valor en carbohidratos y/o cloruro de sodio;

- e) Formación de metabolitos;
- f) Susceptibilidad de las levaduras a los antibióticos.

Las levaduras, se desarrollan en medios de cultivo con una sola fuente de carbono, ellos pueden fermentar o utilizarla por respiración. La asimilación oxidativa de carbohidratos y de nitrógeno de las especies de *Candida* está en la dependencia del sistema enzimático específico.

El método auxonográfico fue realizado por Beijerinck en 1889 ⁽²⁸⁾ y fue modificado pero también mejorado por Wickerham & Burton ⁽²⁹⁾; Davenport ⁽²⁷⁾; Lodder & Kreger-van Rij ⁽²¹⁾

En este método se usan los medios basales sólidos y/o líquidos. La utilización oxidativa de un hidrato de carbono consiste en la habilidad de la levadura en asimilar un azúcar como única fuente de carbono, siendo la asimilación del nitrato de potasio la propiedad de la levadura en utilizar como única fuente de nitrógeno. En auxonograma el medio basal sólido, sin azúcar (1) y enriquecido con dextrosa (2), solo probó:

- 1) varios carbohidratos y alcoholes
- 2) Nitrato de potasio y control positivo (peptona, urea, aspargina, etc.) para el efecto comparativo con las 14 especies KNO_3 negativas de *Candida* de interés médico.

Los medios basales sembrados con muestras que serán determinados, se agregan pequeñas alícuotas de azúcar en polvo o discos (cada uno embebido previamente en solución diferente de azúcar), colocados a intervalos regulares en la superficie de las placas para impedir la formación de los halos de crecimiento. La misma técnica es ejecutada para la asimilación de las fuentes de nitrógeno, la asimilación permite observar el crecimiento, es decir, el aumento del número de células de levadura a ser clasificado.

El crecimiento se verifica en el área donde el hidrato de carbono fue depositado, descubriéndose por la formación de un halo opacado, asimilativo de la levadura. La falta de crecimiento indica la ausencia de enzimas intracelulares. Las pruebas falso-negativas o positivas pueden pasar por mutación genética, involucrando las enzimas esenciales para la utilización oxidativa de los azúcares Silva-Hutner & Cooper, ⁽²³⁾.

La asimilación del nitrógeno, Wickerham ⁽²⁹⁾ observó que, adicionándose el suplemento apropiado de vitaminas al medio basal, se torna posible la asimilación de compuestos nitrogenados de algunas levaduras incapaces anteriormente asimiladas.

Este autor constato que la urea, sulfato de amonio, aspargina y la peptona son siempre asimilados, sirviendo como control positivo para el nitrato de potasio que es negativo para 61 especies de *Candida*.

Wickerham & Burton ⁽²⁹⁾ consideran la prueba de asimilación como la habilidad de la levadura en utilizar determinados compuestos, y no la de reconocimiento de los varios metabolitos resultantes de la fermentación. La prueba de fermentación puede ser reversible, siempre y cuando los resultados permanezcan positivos.

La actividad asimilativa de los azúcares en los medios líquidos, en los tubos de ensayo, es verificada por la presencia o ausencia de turbidez, indicándonos el crecimiento o no de la levadura. El período de incubación de 24 días es necesario para el desarrollo del sistema de adaptación de las enzimas, inicialmente en estado latente.

Después de la agitación de los tubos, los mismos son colocados frente al cartón de Wickerham ⁽²⁹⁾. La transparencia o turbidez del medio líquido semejante es detectada por la visualización de las líneas del cartón ya referido.

La ligera turbidez del medio líquido después del último período de incubación no es considerada por Wickerham & Burton ⁽²⁹⁾ porque la reacción puede ser a causa de impurezas de los carbohidratos.

El grado de asimilación es determinado turbidimetricamente, con auxilio del colorímetro o del uso del cartón de Wickerham ⁽²⁹⁾; Ahearn y col ⁽¹²⁾ estos últimos autores concluyeron que la agitación de los tubos de ensayo de la prueba de asimilación reduce el período de incubación, de tres semanas a una semana aproximadamente. La agitación de los cultivos durante el crecimiento permite el suministro uniforme y constante de oxígeno en todo el medio de cultivo, en cuanto a los cultivos no agitados el oxígeno no es distribuido uniformemente, fijando el concentrado en la superficie y fondo del tubo de ensayo.

La prueba de fermentación tiene por finalidad verificar la capacidad de la levadura en fermentar un azúcar, con producción de gas (dióxido de carbono). Puede ser efectuado en medios de cultivos líquidos (con tubos de Durham para recolectar gas producido), o en medios sólidos siempre que se utilice un indicador de pH, revelador de la presencia de ácidos, fijando el gas producido almacenado en el fondo del tubo de ensayo. Los estudios de fermentación están más sujetos a la verificación de los de asimilación.

La lectura final de las pruebas de fermentación Davenport ⁽²⁷⁾ es efectuada después de 28 días de incubación de 25° a 28° C.

Los resultados son considerados negativos con la producción escasa de ácido o gas. Una escala arbitraria puede ser usada con el propósito de validar el poder fermentativo de las levaduras.

Gas colectado en el tubo de durhan fermentación

- | | |
|---|-------|
| a) Tubos totalmente llenos de gas en 7 días | + |
| b) Tubos llenos de gas en 28 días | débil |
| c) Tubos con pequeña cantidad de gas en 28 días | débil |

La hidrólisis de la urea en algunas especies de *Candida* ocurre por acción de la ureasa intracelular. El *C. humicola* hidroliza la urea, por Ej. La *C. krusei* y *C. curvata* pueden o no producir ureasa, variación genética.

La resistencia de la cicloheximida (Actidiona) puede ser constatada en algunas especies, como *Candida albicans*, *C. stellatoidea*, *C. pseudotropicalis*, *C. guilliermondii*.

Los blastosporos de *Candida albicans* alcanzan diámetro de 1,5 a 5 micras, en cuanto a los clamidosporos, de pared de celular espesa miden 6,9 a 12,7 micras, siendo estructuras esféricas, refractadas BAKER SPIGEL ⁽²²⁾ y ácido alcohol resistentes Lodder & La Col., ⁽²¹⁾.

Candida albicans tiene la habilidad en atacar a la creatina "in Vitro", utilizando una fuente única de nitrógeno Kapica & Blank, ⁽³⁰⁾.

Criterios tomados para identificación de las especies del género *Candida*

Aspecto de las colonias en medios de cultivo sólidos, en cajas Petri

- Las colonias varían en cuanto a color, siendo generalmente blancas, cremas, ligeramente color ceniza o rosáceas. No presentan pigmentos carotenóides.
- La textura es cremosa o membranosa, de superficie rugosa, surcada, lisa, opaca o brillante.
- De modo general, las formas de las colonias son circulares con bordes, regulares o irregulares.

Características de los cultivos en medio líquidos

La ausencia o presencia de sedimento, flocos, tipos de película o anillo son elementos que ayudan en la determinación de *Candida*, otras especies de este género, pueden formar película y/o anillo, sedimento etc.:

- *Candida krusei*.- película opaca o adherente al tubo de ensayo;
- *C. tropicales*.- anillo con burbujas de gas y sedimento;
- *C. membranaefaciens*.- película y flocos;
- *C. diddensi* y *C. glabrosa* anillo y flocos (esta última especie se caracteriza por presentar micelio rudimentario en el cultivo de lámina);
- *C. ingens* y *C. solani*.- película rugosa;
- *C. albicans* no forma película en el anillo, apenas un sedimento polvoriento.

Estudio microscópico

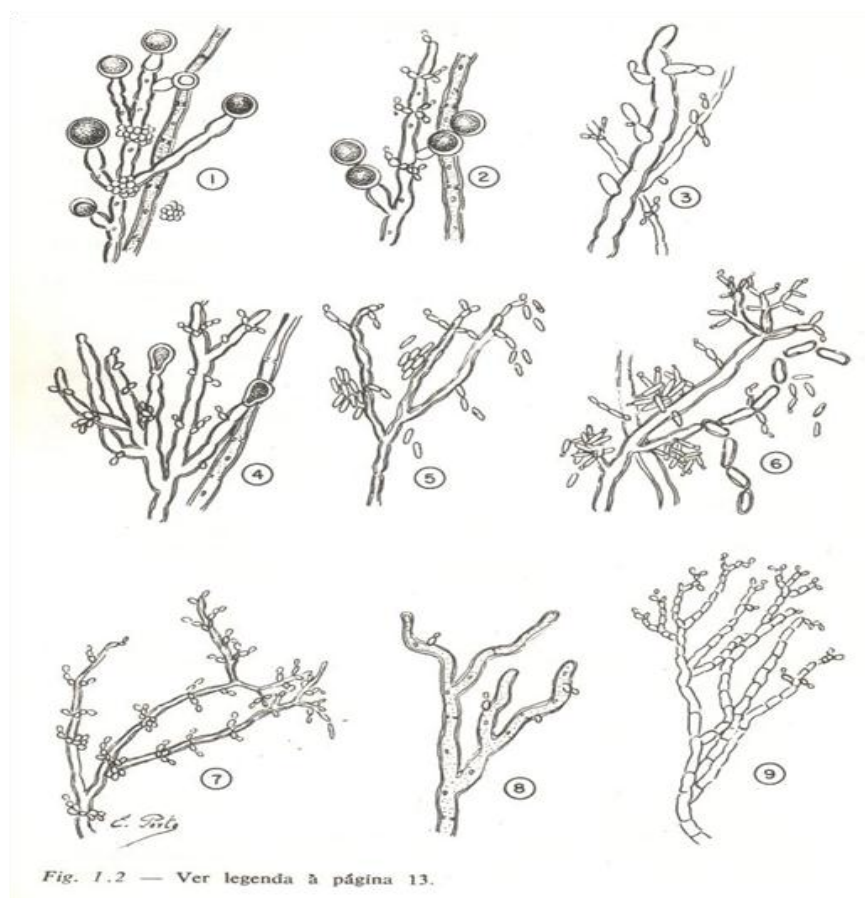
Para el estudio de la forma de los blastosporos, de reproducción vegetativa y el tamaño de las células en las diferentes especies debe ser realizada a partir de los cultivos en medios líquidos.

Extendidos de cultivo o de material clínico teñidos por el método de Gram permiten separar las bacterias de las levaduras y otros microorganismos. Los blastosporos, pseudomicelio y demás estructuras son Gram-positivas.

El cultivo en portaobjetos

El cultivo se puede realizar tanto en portaobjetos rivalier & Seydel⁽³¹⁾, así también en caja de Petri, es empleado para el estudio de la micromorfología, las características del pseudomicelio, pseudo-hifa, hifa verdadera, forma y disposición de los blastosporos, presencia o no de clamidosporos, permiten, cuando están asociadas a su comportamiento fisiológico diferenciarlas según su especie.

Figura 5 La micromorfología de especies del género *Candida* en cultivos en portaobjetos, en medio de ágar-harina de maíz tween 80, después 24-72 h de incubación a 25°C.



Candida albicans

Se caracteriza por presentar clamidosporos globosos, terminales, de espesa pared celular, a veces en gran número. El pseudomicelio es abundante y ramificado y el micelio verdadero puede ser encontrado en los cultivos más viejos. Los Blastosporos ovoides o globosos reunidos generalmente en forma de bola. La hifa verdadera posee varios septos, al contrario de la pseudo-hifa que nos muestra un número escaso;

Stellatoidea

Se diferencia de la *C. albicans* apenas por la escasa producción del clamidosporos, que en el caso de estar presentes, se encuentran dispuestos en cadenas de 2 a 3 células. Los Blastosporos ovoides pueden ser observados en cadenas más o menos verticales

Parapsilosis

En esta especie el pseudomicelio forma células gigantes que se diferencian fácilmente cuando comparamos al pseudomicelio constituido de células pequeñas. El pseudomicelio generalmente es bastante ramificado, verificándose en sus constricciones pocos blastosporos dispuestos en verticilos. Los Blastosporos globosos y/o ovales ligeramente alargados pueden ser observados;

Tropicalis

Produce pseudomicelio abundante y ramificado, con verticilos de blastosporos dispuestos en cadenas simples, irregulares o ramificadas. El micelio verdadero puede estar presente en cultivo. Los blastosporos son ovoides o semiglobosos. El Clamidosporos en forma más o menos periforme (en gota o lágrima) puede estar formado;

Pseudotropicalis

El pseudomicelio es abundante y ramificado en algunas cepas es escaso en otras, los Blastosporos alargados o cilíndricos, en disposición verticilada. Los blastosporos se destacan fácilmente, confiriendo a los cultivos la impresión de toros o pequeños barcos, unidos unos a otros;

Krusei

Presenta pseudomicelio constituido de células alargadas y delgadas, ramificándose como tallos de árbol. Los Blastosporos ovoides y predominantemente cilíndricos, dispuestos verticiladamente en las constricciones del pseudomicelio. Los blastosporos se desintegran fácilmente, permaneciendo a los lados del pseudomicelio en pequeños aglomerados, asemejándose a palitos amontonados de fósforos entrecruzados. El crecimiento en un cultivo en lámina es opaco, aspecto más evidente en una macro colonia;

Guillerrmondii

La formación del pseudomicelio es variable, siendo generalmente muy fino y ramificado. Los Blastosporos ovoides o cilíndricos, cortos, en posición más o menos verticilada, en las constricciones pseudomicelio y/o pseudo-hifa;

Curvata

El pseudomicelio y/o pseudo-hifa son largos y curvados, presentando escasos blastosporos ovoides en forma de salchicha, frecuentemente curvados. La forma de los blastosporos es la mejor evidencia en los cultivos en medio líquido;

Rugosa

El pseudomicelio es bastante ramificado y abundante, constituido exclusivamente de pseudo-hifas cortas. Los blastosporos, cuando están formados son escasos. En medio líquido del cultivo, los blastosporos son ovoides o alargados en forma de salchicha.

La candidiasis vaginal es una causa frecuente de morbilidad en mujeres en edad fértil. Aproximadamente 75% de todas las mujeres adultas padecen, al menos, de un episodio de candidiasis vaginal en algún momento de su vida, y 45 % tienden a desarrollar más de un cuadro de candidiasis vaginal, adquiriendo en muchos casos (5-7%), un carácter crónico que se manifiesta por episodios recurrentes con poca respuesta a la terapéutica.

La presencia de especies de *Candida* en la vagina como constituyentes de la flora microbiana normal está bien documentada y es un elemento que complica el diagnóstico de esta afección, pues no se ha precisado con exactitud, cuándo la cantidad de levaduras presentes en la vagina tiene significación patológica o debe, por el contrario, ser interpretada como simple comensalismo.² *Candida albicans* es responsable de más de 85% de los episodios iniciales y recurrentes de candidiasis vaginal, pero también *C. tropicales* y *C. krusei* son reportadas con frecuencia.^{2,3}

Más recientemente, también se asocia a *Candida dubliniensis* con este tipo de infección, pues aunque fue descrita por primera vez, relacionada con aislamientos a partir de candidiasis oral en pacientes seropositivos al virus de inmunodeficiencia humana (VIH), ha sido además, aislada de pulmones y vagina tanto de portadores como no portadores del VIH.^{4,5} El hecho de que esta levadura comparta características fenotípicas con *C. albicans* constituye otro aspecto a vencer en el diagnóstico. Ambas especies forman tubos germinativos y clamidosporas y crecen sin dificultades en los medios de cultivo micológicos convencionales, a 30 y 37 °C.⁶⁻⁸

Para diferenciar a *C. albicans* de *C. dubliniensis* se sugiere la determinación del tipo de clamidosporas que producen, observar la coloración de las colonias con medios diferenciales, así como comprobar la inhibición del crecimiento a 42°C, lo que constituye una característica distintiva de *C. dubliniensis*. No obstante, las pruebas más confiables para distinguir a ambas especies son las basadas en técnicas moleculares.⁽³²⁾

Utilización de los compuestos de carbono

Fermentación (producción de etanol y dióxido de carbón)

Asimilación de las fuentes de carbono y de nitrógeno

Según Van Uden & Burckley⁽¹⁸⁾ para diferenciar las especies con asimilación positiva o negativa de KNO_3 , aisladas de la naturaleza, bien para pruebas fermentativas, son usadas: hexosas, disacáridos, trisacáridos, pentosas y alcoholes a seguir relacionados:

Para las especies del género *Candida* KNO_3 positivo

- Fermentación: la glucosa y sacarosa;

Asimilación: maltosa, sacarosa, celobiosa, lactosa, melibiosa, rafinosa, inulina, L-ramnosa, eritritol, ribitol y glucitol.

Especies KNO_3 negativas

Fermentación: glucosa, galactosa, sacarosa, maltosa, lactosa y trialosa. Entre las 14 especies de interés médico, algunos no presentan habilidad fermentativa de los carbohidratos. La fermentación de la galactosa, glucosa, lactosa, maltosa, sacarosa y trialosa es negativo para *Cándida humicola*, *C. curvata*, *C. rugosa* y *C. vini*. La fermentación de la glucosa pueden ser débilmente en *C. norvegensis* y negativo o débilmente *C. zeylanoides*.

Siendo negativa la fermentación de los otros azúcares, ya mencionados McGinnis⁽²⁵⁾. La lactosa es exclusivamente fermentada por la *C. pseudotropicalis*, no siendo este azúcar fermentado por las otras especies abajo mencionado, en la prueba de asimilación.

Asimilación: galactosa, sorbitol, sacarosa, maltosa, celobiosa, trealosa, lactosa, melibiosa, rafinosa, melizitosa, inulina, almidón soluble, D-xilosa, L-arabinosa, D-arabinosa, D-ribosa, L-ramnosa, glicerol, eritritol, ribitol, galactitol, manitol, glucitol e inositol.

Crecimiento a temperaturas elevadas

La termo-tolerancia se verifica en una tira de temperatura entre 43° a 47° C en varias especies de *Candida*, siendo óptima la comprendida entre en 25° a 28° C.

Producción de los tubos germinativos

La germinación de los blastosporos después de 2 a 3 horas de incubación a 37° C en suero y en plasma sanguíneo, clara de huevo, etc., es un método eficiente en la identificación rápida de *C. albicans* y *C. stellatoidea*. Efecto r.B.”- reynolds & Braude ⁽¹⁰⁾

La prueba de asimilación de la sacarosa

Separa en dos especies. *Candida stellatoidea* (sacarosa negativa) puede ser considerada como variante alfa-glucosidasa negativa de *C. albicans*, la cual asimila la sacarosa Ahearn ⁽¹²⁾.

La resistencia cicloheximida e hidrólisis de la urea

Complementan, en conjunto con las demás pruebas, la identificación rutinaria de las especies. Entre otras, son resistentes a la cicloheximida *C. albicans*, *C. stellatoidea*, *C. guilliermondii* y *C. pseudotropicalis*, esta última especie puede presentar ureasa intracelular Silva-Hutner ⁽²³⁾

Patogenicidad para animales de laboratorio

La inyección venosa de 1 ml de la suspensión al 1% del cultivo de *Candida albicans* en suero fisiológico es letal para conejos después de 4 a 7 días de inoculación, con formación de abscesos en los riñones y corazón.

La autopsia, de los riñones muestra hipertrofiados e hiperémicos, con micro abscesos blanco amarillento distribuidos en la región cortical es menos intensamente en la medular (Benham, 1931). *Candida albicans* tiene tropismo para el riñón del conejo. Gresham & Wittle ⁽³³⁾.

La inoculación subcutánea de la suspensión en suero fisiológico de *Candida stellatoidea* en conejo no forma micro abscesos en riñones, cuando la vía de inoculación es venosa, se puede constatar el cuadro típico, con conejos presentando la cabeza en opistótono Gentles & La Touche, ⁽¹⁴⁾.

Según Hurley ⁽³⁴⁾, en determinadas condiciones de experimentación, *Candida parapsilosis*, *C. guilliermondii* y *C. krusei* son patogénicas, siendo letales para los hospederos. *Candida tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, *C. stellatoidea* y *C. viswanathii* obedecen también a los postulados de KOH, siendo la patogenicidad de las mismas demostrables en animales no inmunodeprimidos, ahora no en todos los hospederos son igualmente susceptibles. Todas han sido aisladas de lesiones micóticas del hombre y algunas de animales espontáneamente enfermos.

La patogenicidad de otras especies encontradas con menor frecuencia en el hombre, generalmente *C. zeylanoides*, *C. humicola*, *C. genitalis* y *C. sloffii*, más aisladas de cobayos y jabalís aguardan estudios experimentales. Otras especies de *Cándida* pueden producir lesiones, según Louria ⁽³⁵⁾, ellas son raramente letales para animales que no habían sido previamente tratados con corticoides u otras drogas inmunodepresoras, el más importante componente de la estructura antigénica de la pared celular de las levaduras es representado, conforme Gresham & Wittle ⁽³³⁾, por los polisacáridos.

Mackenzie & Col. ⁽⁹⁾ observaron que las células vivas de *C. albicans* estimulaban, en los ratones, la infección tuberculosa experimental, los autores concluyeron que esta actividad era debido a la fracción de polisacárido, específicamente a la dextrina, contenida en las células de la levadura. La inoculación intradérmica y/o subcutánea de células vivas de *C. albicans* en cobayos, conejos y ratones causa formación de nódulos inflamatorios con porción necrótica central, el microorganismo es eliminado con pus y células necrosadas, dando lugar a la formación de úlcera que cicatriza gradualmente. Lesión semejante, pero menos extensa, y producida por células de *Candida albicans* formalizadas y lavadas Winner & Hurley ⁽²⁹⁾. Louria & col. ⁽³⁵⁾ demostraron que el único tejido que sufría infección progresiva eran riñones de ratones después de la inoculación venosa y concluyeron que la cortisona activaba la infección renal. Roth & col. ⁽³⁶⁾ y McGinnis ⁽²⁵⁾.

Ecología de las levaduras del género *Candida*

Las levaduras del género *Candida*, Berikhou 1923, están ampliamente distribuidas en la naturaleza, pudiendo algunas especies vivir en vida saprofítica o parasitaria en el organismo del hombre y de otros animales.

La candidiasis afecta normalmente las zonas húmedas y cálidas de la piel y las mucosas, como las axilas, la boca, uñas, el glande y la vagina; las erupciones cutáneas asociadas con el uso de pañales suelen ser de este tipo. Representa un 25% de las micosis cutáneas.

La candidiasis es la más frecuente causa de vaginitis; se estima que tres de cada cuatro mujeres experimentan al menos un episodio de candidiasis durante su vida. *Candida albicans* es parte de la flora normal de la vagina; las condiciones patógenas pueden producirse por el uso de duchas que eliminan parte de los microorganismos que lo controlan (como los lactobacilos).

Las probabilidades de contraer candidiasis aumentan en pacientes obesos y diabéticos; el consumo de antibióticos y anticonceptivos también incrementa el riesgo, así como alteraciones hormonales debidas al embarazo.

En pacientes con deficiencia inmunológica, neoplasias, diabetes, lupus eritematoso, y linfomas, la infección puede extenderse, con consecuencias graves.

El género *Candida* fue consagrado como *nomen conservandum* en el 9º Congreso Internacional de Botánica, realizado en Montreal (Canadá) en 1959, substituyendo antiguas denominaciones muy utilizadas en la terminología médica, como *Oidium* e *Monilia*. En libros escritos sobre levaduras, Van Uden & Burckley ⁽¹⁸⁾, el clásico libro *The Yeasts*, coordinado por Lodder ⁽²¹⁾, 81 especies fueron consideradas válidas, aisladas de fuentes diversas.

Al estudiar la ecología de las levaduras del género *Candida* y sus diversos ecosistemas, debemos referir que existen especies eurótopas, que viven en varios hábitáculos, al contrario de otras, estenótopas, de distribución limitada.

Tal es el caso de la *Candida albicans* Berikhout, ⁽¹⁷⁾, raramente aislada del aire atmosférico, y más ocurriendo como agente oportunista en el hombre y en los otros animales, en la dependencia del biótomo o ecótomo, como de otros seres vivos que componen el ecosistema, estas levaduras van a encontrar su hábitat preferido.

Grupo heterogéneo de especies se encuadra en el género *Candida*, del suelo, el agua, del aire atmosférico y de vegetales en descomposición aisladas estas levaduras, algunas presentan intensa actividad proteolítica, se sabe que algunos productos de proteólisis de la *Candida albicans* son nutrientes para determinadas bacterias, como *Staphylococcus aureus*. Levaduras del género *Candida* como especie tipo *Candida vulgaris* (*Candida tropicalis*).

Del suelo varias levaduras del género *Candida* ya fueron aisladas, también de vegetales en descomposición, de aguas servidas y arena de playas.

Winner & Hurley ⁽³⁷⁾, en su libro *Candida albicans*, en el capítulo sobre Ecología, refieren que esta levadura vive como comensal o patógeno, en el hombre y en varios animales, también como en el suelo y agua, siendo raro su aislamiento del aire atmosférico. Las levaduras del género *Candida*, principalmente la *Candida albicans*, vive normalmente en la orofaringe, en los pliegues de la piel, en procesos carióticos, en la secreción bronquial, vagina, orina y heces. Así mismo, la presencia de levaduras del género *Candida* en la boca y oro-faringe está condicionada a una serie de factores, tales como higiene bucal, deficiencias nutricionales diversas, presencia de diabetes, disminución de la resistencia de la mucosa gingival por la acción prolongada de alcohol o cigarro, arriboflavínica etc.

El sarro, principalmente de los fumadores crónicos con secreción matinal abundante, en los portadores de neoplasias, abscesos pulmonares, bronquiectasias y tuberculosis, puede vincular rica flora bacteriana y fúngica, incluyendo en este último caso, levaduras del género *Candida*, tales como la *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Candida krusei* etc. en el caso particular de la piel, se verifica que, en los pliegues interdigitales, también en los surcos mamarios, cuando la sudoración es abundante, o cuando se utilizan pomadas a base de corticoides. *Candida albicans* puede ser aislada con mayor facilidad.

Con relación de las heces, en 1970, en colaboración con rivalier & Seydel ⁽³¹⁾ se verificó que la Prevalencia de *Candida albicans* en niños con o sin diarrea fue siempre elevada con un porcentaje de 86% y 82% respectivamente, la participación de esta levadura en la diarrea del lactante es mínima, a no ser que se practique repetidas veces su aislamiento, observándose en las heces la fase filamentosa, una de sus señales de virulencia.

En todos los casos donde se observó Candidiasis bucal, el aislamiento de la *Candida albicans* también se ve a través del cultivo de heces. No se puede negar la existencia de casos comprobados de enteritis por *Candida albicans*, principalmente en niños desnutridos, sometidas durante largo período con antibioticoterapia con tetraciclina, en pacientes inmunodeprimidos por enfermedades graves.

En secreciones vaginal es común la presencia de levaduras del género *Candida*, principalmente la *Candida albicans*, mismo en la ausencia de inflamación. En gestantes, principalmente en lo último trimestre de gravidez, debido al aumento del glucógeno vaginal, por la acción de la estrina, las levaduras encuentran terreno propicio para su proliferación, provocando la vulvo-vaginitis blastomicética.

De acuerdo con el grado de higiene vulvo-vaginal, pH de la secreción, con la presencia o no de bacilos de Döderlein, la asociación o no de *Trichomonas vaginalis* o de otros microorganismos, la intensidad del proceso inflamatorio puede variar, con la presencia de prurito, que es debido a productos metabólicos de la *Candida albicans* o de otras especies. En 1996 Silva-Hutner⁽²³⁾ en 150 gestantes verificaron la presencia de levaduras del género *Candida*, ha sido aislada la *Candida albicans*, en 37 casos (24,6%), en 150 mujeres no embarazadas, 28 cultivos fueron positivas (14,2%). Estos datos confirman otros de la literatura, de que realmente la gestación favorece la proliferación de levaduras del género *Candida* en el medio vaginal. Todo hace pensar también que el empleo de anticonceptivos favorece el crecimiento de hongos levaduriformes en la secreción vaginal.

En ambientes hospitalarios, en los pacientes politraumatizados, quemados graves, internados en unidades de terapia intensiva, con sondas y catéteres después de tratamientos prolongados con antibióticos, corticoides y otros, la contaminación por levaduras del género *Candida* puede ocurrir en aparatos de traqueotomía o sondas, en contacto con heces u orina de los enfermos. De esta manera, se explica la presencia de candidiasis sistémica, infecciones pulmonares y en otros órganos, detectados por el examen micológico correcto en pruebas serológicas adecuadas, interpretadas siempre a luz de los datos clínicos.

Del punto de vista ecológico, considerándose la comunidad biótomo en lo que respecta a los hongos levaduriformes del género *Candida*, se verifica que su distribución es la más amplia, que en el medio ambiente, haciendo parte de la flora del hombre y de otros animales.

Murillo De Linares & Marin⁽³⁸⁾, estudiando la frecuencia de levaduras del género *Candida* como patógenos o constituyentes de la flora humana normal, verificaron, en San Salvador, que en 105 individuos, de los cuales 102 eran mujeres, levaduras del género *Candida* fueron aisladas en 57 casos (54%).

La distribución de levaduras del género *Candida* aisladas de diferentes áreas anatómicas en 105 individuos Según Murillo De Linares & Marin⁽³⁸⁾. Heces, boca, orina y piel (en este último caso piel del brazo directo).

Todas las muestras fueron identificadas, perteneciendo a 5 especies: *Candida albicans* fue la más frecuente aislada (44 muestras), *Candida parapsilosis* (23 muestras) y *Candida tropicalis*, *Candida krusei* y *Candida guilliermondii* aisladas menos frecuente. El número de especies aisladas de cada una de aquellas fuentes que se encuentran en la Tabla 5

Tabla 5 Distribución de especies de *Candida*, de acuerdo con su fuente de aislamiento

Fuente	Candida	Candida	Candida	Candida	Candida	Total
	albicans	parapsilosis	tropicalis	krusei	guilliermondii	
Vagina	18(17) ^a	7(7)	1(1)	1(1)	3(3)	30(29)
heces	7(7)	5(5)	5(5)	5(5)	3(3)	29(26)
Boca	8(8)	4(4)	3(3)	3(3)	1(1)	18(18)
orina	10(10)	3(3)	1(1)	1(1)	2(2)	17(17)
Piel	1(1)	4(4)	2(2)	2(2)	2(2)	10(10)
Total	44(43)	23(23)	12(12)	12(12)	11(11)	102(100)

El primer número representa el número de muestras; el número entre paréntesis es el porcentaje en relación de las 102 muestras aisladas

Métodos micológicos utilizados de rutina en la identificación de levaduras del género *Candida*

La elevada incidencia de infecciones atribuidas a las especies del género *Candida*, en especial a *C. albicans*, han enfatizado a los especialistas en micología médica para la necesidad de nuevos métodos de diagnóstico micológico, con el objetivo de clasificar, con precisión, las especies aisladas del material clínico.

Entre las demás micosis, las infecciones por *Candida albicans* se hallan entre las más comunes que afectan la especie humana y los animales. La colaboración entre el médico y el micólogo es esencial, a fin de llegar a concluir sobre el papel del posible agente etiológico verificado y posterior identificación laboratorial, se ha considerado que ciertas especies del género pueden ser encontradas en individuos normales. La presencia de *Candida* en muestras de sangre, normalmente estériles, y significativa en el diagnóstico micológico, la importancia del encuentro de las levaduras de ese género en materiales naturalmente contaminados, como sarro, orina y piel, debe ser confirmada cuidadosamente, en base a los datos clínicos. Para la identificación de las especies del género *Candida*, una variedad de recursos han sido preconizada por innumerables autores, siendo clásicos los indicados por Lodder⁽²¹⁾.

Examen directo

Para el diagnóstico presuntivo, se torna necesario el examen microscópico (directo o tinción de Gram) del material clínico. Valiosas informaciones pueden ser obtenidas a partir de este examen, tales como: cantidad de levaduras presentes; presencia o ausencia de pseudomicelio; diámetro de las levaduras y número de brotamiento; presencia o ausencia de células capsuladas, para descartar el diagnóstico de la criptococosis.

El material clínico a ser examinado puede ser el más diverso posible, incluyendo raspado de piel y uña, secreciones, sarro, pus, líquido, orina, material de biopsia y necropsia, raspado de piel y uña son examinados entre porta y cubreobjetos, utilizándose KOH del 10-20% como clarificante, permitiendo mejor contraste en la visualización de los hallados micológicos. En cuanto a las otras muestras biológicas no necesitan de aclaración previa.

En los materiales de biopsia y autopsia, además del examen micológico, son efectuados exámenes histopatológicos, si es necesario, los frotis pueden ser coloreados por los métodos de Tinción de Gram, Ziehl-Neelsen y Giemsa. Los blastosporos y pseudomicelio de las levaduras se colorean positivamente por el método de Gram. Según Lodder⁽²¹⁾ las especies de *Candida* aparecen en materiales clínicos sobre la forma de células ovales, con brotamientos y pseudomicelio, siendo que la predominancia de una de esas dos formas depende del tiempo y gravedad de la lesión.

En 1957, Murillo De Linares & Marin⁽³⁸⁾ observaron que la formación de filamentos coincidía con el desarrollo de los síntomas clínicos. En 23 casos de candidiasis de la piel y uña, observaron que el pseudomicelio era más numeroso cuanto más graves eran las lesiones, en la identificación de las levaduras, Mackenzie⁽⁹⁾ afirma que debe ser considerada la proporción relativa entre formas levaduriformes (L) y micelianas (M), pues es indicativa del grado de desarrollo del hongo en condiciones patológicas. Tal observación fue confirmada por Hurley & Stanley⁽³⁴⁾. Según Berikhou⁽¹⁷⁾, el diagnóstico de candidiasis se basa primordialmente en el encuentro de formas filamentosas en el material clínico. Burckley⁽¹⁷⁾ recomienda la dilución de las muestras de orina en placas contenidas en agar Sabouraud enriquecido de antibióticos antibacterianos. Según Ahearn & col.⁽¹²⁾ la concentración de levaduras en la proporción de 10 por ml de orina es indicativa de infección.

Aislamiento

En exámenes de rutina, los medios para aislamiento de levaduras como agar-Sabouraud o agar-Malta adicionados con cloranfenicol-0,1 mg/ml o penicilina y estreptomycin (respectivamente 20 U/ml e 40g/ml), inhiben el crecimiento de bacterias. Ciertas especies de *Candida*, como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* y *C. rugosa*, son sensibles a la cicloheximida (Actidione), en la concentración de 0,5 mg/ml.

Para hemocultivos se recomienda el empleo de frascos contenido de una capa de agar-Sabouraud y otra de caldo-Sabouraud. De esta forma, el caldo diluye algunos anticuerpos y otros inhibidores de sangre, estimulando la multiplicación de las levaduras.

Identificación de la *Candida albicans* por la propiedad de formación de tubos germinativos

La producción de tubos germinativos es rápida y presuntiva en la identificación de *C. albicans* y *C. stellatoidea*.

En 1990, Taschdjian & Col. ⁽³⁹⁾ propusieron una técnica simple para la verificación de esta propiedad, consistiendo la prueba en la suspensión de la levadura en 0,5 ml de suero sanguíneo, seguida de incubación a 37°C y examen microscópico después de 90 minutos. En caso negativo, los cultivos son nuevamente incubados por 2 a 3 horas. Según Reynolds & Braude ⁽¹⁰⁾ y Mackenzie ⁽⁹⁾ La germinación de los blastosporos después de 3 horas de incubación a 37°C en suero, plasma sanguíneo, líquido y clara de huevo Burckley & Van Uden ⁽¹¹⁾, es un método eficiente en la identificación rápida de *C. albicans* fue utilizado suero de bovinos, equinos, ovinos y de perros en la inducción de tubos germinativos, con buenos resultados Taschdjian & col. ⁽³⁹⁾.

Un pequeño porcentaje de pruebas falso-negativas es comúnmente atribuido:

- Inoculos contenidos con exceso de blastosporos en relación al volumen de suero Ahearn, ⁽¹²⁾; Joshi & col., ⁽¹³⁾; Mackenzie, ⁽⁹⁾;
- Cultivos viejos, presentando células con vitalidad disminuida Ahearn, ⁽¹²⁾;
- Cultivos contaminados con bacterias

En la demostración de factores físicos que influyen en la inducción de la producción de tubos germinativos, Berikhout ⁽¹⁷⁾ observo que la cantidad de inóculo más apropiada es de 7.500 a 10.000 células por mm³, siendo 1 ml el volumen adecuado de plasma, se evidencia la producción escasa a 37°C, siendo óptimo el período de 3 horas incubación. Para evitar la inhibición en producción de los tubos germinativos, provocada por el gran número de blastosporos, Joshi & col. ⁽¹³⁾ se recomienda la suspensión de 2 o 3 colonias en 0,5 ml de agua destilada estéril, utilizándose una gota de esa suspensión para la siembra.

Cultivo en portaobjetos

Técnica comúnmente utilizada consiste en distribuir al medio de cultivo fundido, distribuir hasta formar película sobre un portaobjetos, conservado en caja de Petri, después de la solidificación del medio, la levadura en estudio es sembrada en finas estrías, recubriéndose con un cubreobjetos, manteniendo la humedad necesaria para el crecimiento de la levadura, embebiéndose una pequeña porción de algodón hidrófilo con agua esterilizada.

La incubación es efectuada a 37°C durante 1 a 5 días, procediéndose, entonces, al examen microscópico para observar la morfología de la levadura.

Para los cultivos en lámina y/o placas de Dalmat (40), han sido utilizadas grandes variedades de medios selectivos para la morfología de las levaduras, siendo generalmente empleado agar-harina de maíz; Lodder & Kreger-Van rij (21); Van Der Walt (26); el Tween 80 (sorbitano polioxietileno monoleato) es adicionado a los medios en la proporción de 1%, induciendo la producción de las clamidosporas. El Tween 80 provoca disminución de la tensión superficial en los medios de cultivo, favoreciendo el desarrollo de las clamidosporas. Estudios comparativos con diversos medios de cultivo fueron efectuados por Gresham & Wittle (33).

Asimilación de carbohidratos y alcoholes

Existen varios métodos para la realización de esta prueba:

Auxograma o asimilación de carbohidratos de Beijerinck (28)

Utiliza medio sólido ausente de cualquier fuente de carbono.

En 1952, Lodder & Kreger-Van rij (21) indicaron el medio basal conteniendo agar, sulfato de amonio, fosfato de potasio monobásico, sulfato de magnesio heptahidratado, para la realización de esta técnica. En la ejecución de la prueba el medio semi sólido es atemperado a ($\pm 45^{\circ}$ C), posteriormente vertido en una caja de Petri sobre la suspensión de la levadura a ser estudiada después de la solidificación del medio, se coloca pequeñas cantidades de carbohidratos en polvo en la superficie del mismo.

La prueba es positiva con la formación de un halo de crecimiento alrededor del azúcar asimilado y, en caso negativo, no se verifica dicho halo. Según Van Der Walt (26), esta técnica posibilita la lectura de los resultados entre 2 a 4 días.

Asimilación de nitrato

La habilidad de la levadura en utilizar el nitrato como única fuente de nitrógeno es evaluada por las mismas técnicas ya mencionadas, variando apenas en la composición del medio basal, ausente de nitrógeno y enriquecida con dextrosa.

Zimograma o fermentación de carbohidratos

Las pruebas de fermentación de carbohidratos son útiles en la identificación de las levaduras, a pesar de ser más sujetas a variaciones que los test de asimilación.

La única evidencia de la fermentación de carbohidratos por las levaduras es la formación de dióxido de carbono, siendo su detección efectuada a través del tubo de Durham. Según Lodder & Kreger-Van rij (21), que adoptaron la primera técnica, ese proceso es el más sensible.

Actualmente los tubos de Durham son más empleados, asegurando mejores resultados, el inconveniente de su uso consiste en cuidado que se debe de tener en la observación diaria, después el líquido tiende a reabsorber el gas formado Joshi, (13).

En la prueba de fermentación, medios basales líquidos conteniendo apenas extracto de levadura en solución acuosa y/o extracto de levadura-peptona propuesto por Wickerham ⁽²⁹⁾ ofrecen buenos resultados. Van Der Walt ⁽²⁶⁾ recomienda la disolución de los azúcares en el medio basal, en la proporción de 2%, exceptuando la rafinosa, utilizada en mayores concentraciones (4%), Wickerham ⁽²⁹⁾ adiciona azul de bromotimol al medio de cultivo y utiliza 0,1 ml de la suspensión de la levadura a ser examinada en agua destilada estéril, la incubación es efectuada a 25-28°C, con observación hasta 24 días. El medio basal empleado por Silva-Hutner ⁽²³⁾ contiene peptona, extracto de levadura y púrpura-bromocresol, como indicador, con pH final 7,0. Según Burckley ⁽¹¹⁾, el uso de indicador no es necesario, siendo 3% la cantidad de azúcares utilizados, con excepción de la rafinosa (6%).

Pruebas complementarias

1. **Hidrólisis de la urea** la hidrólisis de la urea es acentuada en los géneros *Cryptococcus* y *rhodotorula*, y también en algunas especies de *Candida* y *Trichosporon* también podrían presentar esta propiedad. En esta prueba, la levadura es sembrada en agar-Urea de Christensen ⁽⁴¹⁾, incubándose a 25° C y observándose diariamente, a los 5 días. En su composición, este medio contenido, agar, peptona, dextrosa, clorito de sodio, fosfato de potasio monobásico, urea y rojo fenol como indicador, la reacción positiva es demostrada por la alteración en la coloración del medio, inicialmente amarillo, tornándose de rosa a rojo por la alcalinización y consecuente viraje del indicador.
2. **Crecimiento en medio líquido** El crecimiento en medios líquidos, tales como extracto de malta o agua peptonada-extracto de levadura, las levaduras pueden formar sedimento, anillo o película, la formación de película en medios líquidos está estrictamente relacionada con la necesidad de oxígeno por la levadura. En el pasado, de considerable importancia fue la formación de película y esta propiedad es todavía de cierto valor en la caracterización de algunas especies de levaduras Van Der Walt, ⁽²⁶⁾ después de un período de 2-3 días de incubación a 34-37° C el examen microscópico permite observar el tamaño, la forma de las células y su modo de reproducción vegetativa, importantes en la diferenciación de los géneros.
3. **Crecimiento en medio sólido** Para el estudio del aspecto macroscópico de las colonias, Van Der Walt ⁽⁴⁴⁾ recomienda la siembra de la levadura en agar-malta o en medio conteniendo agar, peptona, extracto de levadura y glucosa, la descripción de las colonias es efectuada inicialmente después de 2-3 días y al final de 4 semanas de incubación a 34-37°C.

Etiopatogenia y aspectos clínicos de las candidiasis superficiales cutaneas y cutaneo-mucosas

Los hongos están ampliamente distribuidos en la naturaleza, siendo que las levaduras, en especial las del genero *Candida*, son las más frecuentes en el tubo digestivo de animales con dieta rica en carbohidratos.

En la literatura está registrada la presencia de la levadura *Candida*, incluyendo la *Candida albicans* de acción patogénica más evidente en la piel y mucosas de individuos sanos. Así mismo, este agente oportunista ha sido aislado de la cavidad bucal, heces, secreción vaginal, sarro y orina. En áreas expuestas de la piel, su aislamiento se da con menor frecuencia.

En pacientes internados, no portadores de candidiasis, Murillo De Linares & Marin ⁽³⁸⁾ aislaron levaduras del género *Candida* de los cabellos y de la ropa de la cama.

En varios casos de enfermedades por diversas causas, o en la dependencia de factores locales, se eleva la incidencia de levaduras del género *Candida*. Así mismo en casos de endocrinopatías como hipoparatiroidismo, hipoadrenalismo y en los diabéticos existe mayor predisposición a las candidiasis, dificultando muchas veces el tratamiento. Las causas predisponentes, en tales casos, sería el aumento de la glicemia y eventual deficiencia inmunitaria.

En cuanto a este factor, constituye uno de los responsables por la infección en neoplasias malignas y hemopatías graves, como la leucemia aguda, la agranulocitosis y aplasia medular medicamentosa.

En pacientes desnutridos, en ancianos debilitados y en prematuros, se verifica, igualmente, mayor incidencia de candidiasis, en sus diversas formas clínicas, durante el embarazo, principalmente en su último trimestre, debido a un aumento del glucógeno en las células vaginales, se eleva también en la incidencia de la vulvo-vaginitis blastomicética y también por el uso prolongado de algunos agentes terapéuticos predispone al apareamiento de las candidiasis superficiales o profundas.

Entre ellas los más comunes son los corticoides, por la acción inmunodepresora, los antibióticos de espectro prolongado, los medicamentos antitumorales y los anticonceptivos. Smits & col ⁽²²⁾ observaron, a través del cultivo de raspado bucal y perianal, aumento significativo, en ambos lugares, de *C. albicans* después de administración de penicilina parenteral y tetraciclinas. Datos semejantes fueron aceptados por varios otros autores. Los anticonceptivos, según Johnson ⁽⁸⁾, pueden aumentar la incidencia de la candidiasis vulvo-vaginal.

Con relación a los factores locales, uno de los principales es la humedad. Así mismo, trabajadores en bares y lavanderías, entrando permanentemente en contacto con agua, muchas veces contaminada, y jabones, posibilitan la colonización del hongo, principalmente en surcos o pliegues cutáneos donde las levaduras encuentran mejores condiciones para su crecimiento.

La maceración de la piel, por factores mecánicos o químicos, también favorece el crecimiento de la levadura, sobre la forma filamentosa.

En las candidiasis cutáneas y cutáneo-mucosas superficiales, indicamos que la levadura más frecuente en tales procesos es la *Candida albicans*, y otras especies pueden ser aisladas, incluyendo levaduras pertenecientes al género *Candida* es por lo cual la expresión de micosis cutánea, como un problema más importante.

Considerándose el género *Candida*, con sus diversas especies, ya caracterizadas anteriormente, cuando se examina algún caso sospechoso de candidiasis cutánea o cutáneo-mucosa superficial, es muy difícil conocer la procedencia del hongo aislado de las lesiones. La anamnesia y el examen clínico cuidadoso ayudan muchas veces, para esclarecer los casos. La presencia de levaduras del género *Candida* en el organismo del humano, como agente oportunista, debe ser siempre tomada en consideración, bien como la exclusión de los factores predisponentes, anteriormente citados, tanto los sistémicos como los locales. La infección por *Candida* en la piel y mucosa constituye, todavía motivo para varias investigaciones, principalmente cuanto a la forma de penetración del hongo.

En cuanto a la forma de penetración, realiza a través de los blastosporos, también por el pseudomicelio, este con mayor virulencia.

Varios trabajos sugieren que la forma de infección se debe al pseudomicelio, que predomina en las formas iniciales de la adolescencia, sobre los blastosporos. A través de la microscopia electrónica, Murillo De Linares & Marin ⁽³⁸⁾ demostraron la presencia de pseudomicelio entre las células epiteliales. Describirán, también, aberturas en la membrana celular por donde penetraría el micelio filamentos, con la desaparición de los tonofilamentos. Este último caso fue refutado posteriormente en 1981, por los mismos autores.

En el estudio de las candidiasis, candidiasis superficiales, cutáneas y cutáneo-mucosas, deben ser analizadas, conforme ya referimos, las condiciones sistémicas y locales, incluyendo hábitos de higiene, uso de baños permanentes y de paños húmedos. El cigarrillo y el alcohol crean condiciones para la colonización de *Candida albicans* en la mucosa bucal.

En las candidiasis superficiales, la “agresividad”, o mayor patogenicidad de la levadura, está, como vimos, condicionada a factores externos e internos. Entre los primeros, incluyéndose la humedad y la maceración epitelial de la resultante, en los pliegues cutáneas del tegumento expuestas a inmersión o al contacto prolongado con líquidos, inclusive curativos y paños húmedos.

Esta es la razón por la cual las candidiasis cutáneas son frecuentes en axilas, interglúteas y entre los espacios de lesiones interdigitales de individuos cuya profesión exige la inmersión prolongada de las manos y pies en agua (amas de casa, lavanderas, coperas, soldados con calzados apretados etc.

Factores internos o endógenos son importantes, principalmente en las formas mucosas y sistémicas, prevaleciendo en la diabetes, favoreciendo, por ejemplo, las balanitis y vulvitis. El alcoholismo crónico, la antibioticoterapia prolongada y el empleo de anovulatórios deben ser estudiados. Especificando los principales factores predisponentes de las candidiasis superficiales, podemos así mismo sistematizarlas:

- Candidiasis intertriginosa (Intertrigo blastomicético)
- Candidiasis cutánea generalizada
- Paroníquia y oníquia
- Candidiasis bucal
- Candidiasis vulvo-vaginal
- Candidiasis perianal de los baños y paños húmedos
- Balanitis
- Candidides
- Otitis.

Candidíasis intertriginosa

Las lesiones rojizas, de superficie húmeda, exudativa y descamativas, acompañadas de un olor característico, y de extensión variable, se localizan en los pliegues y superficies cutáneas: axilas, región umbilical, submamarias, interglútea, perianal y espacios interdigitales.

Algunas lesiones son acompañadas de prurito y, cuando se produce maceración intensa, se nota, entonces erosión superficial recubierta de exudado blanquecino. La formación de vesículas son casos raros.

En mujeres con mamas voluminosas, el pliegue es doloroso, principalmente cuando la exudación es intensa, llegando a formar fisuras,

Christensen ⁽⁴¹⁾ llamo la atención para casos de “tiña cruris”, con aislamiento a partir de las lesiones, de *Trichophyton rubrum* asociado a *Candida albicans*.

Candidíasis cutánea generalizada

Se demostró que es rara, verificada eventualmente en pacientes desnutridos o inmunodeprimidos, nada se relaciona con la candidíasis mucocutánea crónica. Caracterizada por la presencia de placas eritematosas, exudativas con vesículas, pústulas y costras comprometiendo el tronco, la cara, los miembros y las mucosas oral y vaginal. Sometiendo al examen micológico bien conducido podrá llevar al diagnóstico de tales lesiones.

Paroniquia y oníquia

En estos cuadros la *Candida albicans* es más frecuente en paroniquia que en la oníquia, observándose muchas veces en las amas de casa, lavanderas y otras profesiones que tienen un contacto prolongado de las manos con agua y jabón. Los tejidos periungueales presentan, edemas, tumefacciones rojizas, dolorosos a la palpación.

El proceso es de evolución crónica a no ser que a este se asocien bacterias piógenas, en las oníquias por *Candida*, para que se asocien tales lesiones a la levadura, es necesario demostrar y aislar el hongo, repetidas veces, principalmente revelando el examen microscópico, formas filamentosas.

Varios autores consideran *C. albicans* como el agente primario de la paroniquia, por Ej. Taschdjian & col. ⁽³⁹⁾ notaron, en la paroniquia crónica, la asociación frecuente con el *Staphylococcus pyogenes* (infección mixta), sugiriendo en estos casos, para el tratamiento, la asociación tópica de nistatina y gentamicina, sistémica de la eritromicina.

Candidiasis buca

La estomatitis cremosa o “algodoncillo”, o glositis candidásica aguda y crónica, con maceración en las comisuras, son registrados en la práctica médica en niños desnutridos y prematuros o en adultos con diabetes y en portadores de arriboflavinosa.

En la llamada “lengua negra pilosa” y otras alteraciones de la lengua como “lengua geográfica”, podemos encontrar levaduras del género *Candida* en el material recogido de las lesiones, como gérmenes oportunistas, más aun la causa primaria de la misma es siempre la glositis por irritación tabaquica, con hipertrofia de las papilas del linguales y color negro de la misma, debido a la impregnación de la nicotina.

Candidiasis perianal

En niños o adultos, después del uso prolongado de antibióticos, principalmente del grupo de las tetraciclinas, pueden ocurrir lesiones perianales, acompañadas de prurito y exudado, con exámenes positivos para levaduras.

La infección por *C. albicans* en la “dermatitis de pañales” exagera el cuadro básico con eritema, edema y lesión pápulo-rosada (papulosis sifilóide pos-erosiva- de Jaquet). La necesidad de diagnóstico diferencial con sífilis congénita precoz. En la región de los pañales empeora las lesiones de soriasis y dermatitis seborreica por la infección con *C. albicans*, siendo en estos casos encontrados en el examen micológico, pseudomicelio, indicando actividad del proceso.

Balanitis

Puede ocurrir como infección facultativamente venérea, en el prepucio aparece eritema y edema, en el surco bámano-prepucial, lesiones eritematosas o eritemato-erosivas, recubiertas o no por una capa blanquecina.

Candídides

Son procesos alérgicos, secundarios a los focos activos aislados, no se demuestra el hongo en las lesiones, cuya morfología es variable, las lesiones pueden ser vesiculosas, eritemato-vesiculosas, pápulo-liquenóides y de tipo urticaria, pueden ser observadas, con localización variable.

Algunos dermatólogos se refieren, específicamente, a una “candidiasis alérgica palpebral” recidivante, las mismas con el tratamiento específico del foco primario, la prueba de la candidina de tipo tuberculínico, se presenta fuertemente positiva, debido a la elevada frecuencia de su positividad en individuos normales, el dermatólogo deberá interpretar con buen criterio sus resultados con el cuadro clínico, el tratamiento bien orientado del foco primario permitirá que desaparezca las lesiones secundarias, el alérgeno responsable por las candidiasis parece tratarse de un polisacárido nitrogenado, presente principalmente en la variante “S” de la *C. albicans*.

Otitis

Las otitis por *Candida albicans*, son raras en la práctica médica

Queratitis

Las queratitis y úlceras de córnea producidas por esta levadura comienzan a preocupar a los oftalmólogos, contraindicándose el uso de colirios o pomadas de corticoides en el preoperatorio que facilitan la colonización de varios hongos, inclusive de la *Candida albicans*, en estas últimas dos décadas, las micosis oculares pasaron a ser registradas con mayor frecuencia, la córnea es una parte de la capa externa del globo ocular y, dado el interés del asunto, incluimos en este capítulo breves consideraciones sobre las queratitis por *Candida*, las cuales pueden evolucionar, de una simple ulceración a procesos de panoftalmía. ⁽⁴²⁾

Candidiasis sistémica profunda

Son menos frecuentes, se asocian a factores predisponentes severos. Tiene mala respuesta al tratamiento y para que se produzca tiene que haber, por lo general, invasión sanguínea. Entre estas tenemos la candidiasis broncopulmonar, la endocarditis, la meningoencefalitis.

La septicemia ocurre en pacientes con inmunosupresión severa de la inmunidad humoral y celular. Un ejemplo de lo anterior es el SIDA, donde se pueden presentarse todas las formas descritas de las candidiasis, aunque las más frecuentes son: la oral esofágica, cutánea y genital. ⁽⁶⁾

Candidiasis mucocutánea crónica

Se da la denominación de candidiasis mucocutánea crónica (CMCC) a los cuadros especiales de infección de la piel, uñas y mucosas, sobre todo las mucosas accesible, producidos por levaduras del género *Candida* y que presentan carácter crónico, recidivante y de rebeldía terapéutica, teniendo por base defectos inmunológicos, endocrinos y metabólicos, en la mayoría de las veces innatos. Por eso, el inicio nace siempre en la infancia y, debido a la persistencia de los defectos inmunológicos, endocrinos y metabólicos, son crónicos, responden mal al tratamiento y son resistentes.

Al respecto de la definición, no se excluye la posibilidad de lesiones viscerales y de otras estructuras profundas, ahora no parecen ser estos pacientes más propensos a tales manifestaciones, y tampoco al inicio de la infancia, cuando los defectos básicos citados podrían ser adquiridos, en vez de congénitos.

El comportamiento durante la terapéutica es otra característica de la CMCC. Los tratamientos convencionales son prácticamente inoperantes y los métodos más modernos, de mayor actividad, posibilitando la regresión de las lesiones, no alterando la base patogénica hacen regresivas al tratamiento,

Aspectos generales de las candidiasis mucocutánea

Antes de abordar la CMCC en especial, conviene recordar aspectos generales de la infección por *Candida* en el hombre, la candidiasis puede ocurrir sobre la forma aguda, sub-aguda o crónica, en la mayoría comprometiendo piel, uñas, mucosas, pronóstico benigno, raramente, son posibles localizaciones viscerales y de estructuras profundas. En circunstancias especiales se torna sistémica, porque se han verificado últimamente, dada la interferencia de modernos procedimientos terapéuticos, quirúrgicos o médicos.

Levaduras del género *Candida* son habitualmente saprofitas. Según Taschdjian & col. ⁽³⁹⁾ 25 a 50% de las personas normales son portadoras de estos hongos en la boca, intestinos y vagina. Linares & Marin ⁽³⁸⁾, recientemente, confirmaron esos datos, encontrando 57 (54%) portadores entre 105 individuos, en orden decreciente, en la vagina, heces, boca, orina y piel.

Candida albicans, por ejemplo, es un agente oportunista, esperando tornarse patógena, modificaciones de su ambiente de vida saprofita, de orden bioquímico o aumentado por deficiencia de la resistencia inmunológica del individuo. Entre esos factores están la obesidad, humedad, calor, maceración, endocrinopatías, diabetes, embarazo, píldoras anticonceptivas, mala nutrición, deficiencia de vitaminas del complejo B, cirugías (inclusive cardíacas), diálisis peritoneal, procedimientos médicos, por ejemplo, cistoscopia, infusiones y cateterismo venosos o arteriales, acidosis, antibioticoterapia prolongada, anemias, deficiencia de zinc, deficiencia de hierro, deficiencia de transferrina, deficiencia de mieloperoxidasa; quimioterapia, corticoterapia, cáncer, linfomas, hemopatías, infecciones crónicas, enfermedades inmunodepresivas e inmunodeficiencias congénitas. Algunas de esos factores pueden actuar a través de la inmunodepresión, habiendo también la posibilidad de la asociación de más de una de ellas que juntamente van a facilitar la receptividad a la infección que surgirá, a veces, con complicaciones graves, la enfermedad es persistente agravando, el cuadro patológico y su pronóstico.

Cuadros clínicos generales de las candidiasis mucocutánea

Son posibles manifestaciones clínicas, aisladas o asociadas, de la candidiasis: queilitis, estomatitis (en especial la estomatitis cremosa), leucoplasia oral por *Candida*, rinitis, faringitis, laringitis, esofagitis, gastroenteritis, colongitis, bronquitis, infecciones pulmonares, infecciones renales, cistitis, uretritis, bálano-prepucial, vulvovaginitis, infecciones del sistema nervioso central, meningitis, infecciones cardíacas incluyendo endocarditis, osteomielitis, lesiones hepáticas, lesiones esplénicas, septicemia y coagulación intravascular diseminada.

En la candidiasis intestinal aparece a veces “síndrome de la embriaguez”, caracterizada por la aparición de sensación de embriaguez, con fiebre, sudoración, tortura, astenia, palpitaciones, cerca de 20 minutos después de la ingesta de alimentos y dura aproximadamente 2 horas.

En la piel, la candidiasis se presenta como intertrigo, paroniquia, onicomycosis, onicólisis, foliculitis de la cara, eritema micótico infantil, erupciones diseminadas eritemato-escamosas o papulo-eritematosas, gomas, lesiones macronodulares purpúricas septicémicas o granulomas hiperqueratósicos ulcero-vegetantes

Características candidiasis mucocutánea crónica

Esta forma de candidiasis, ya anteriormente definida, merece atención especial por sus aspectos peculiares, que la hacen importante y bien delimitada para su cuadro clínico. Las principales características de la CMCC son:

Lesiones tegumentares especialmente de la piel, de las uñas y de las mucosas accesibles, persistentes, recidivantes y respondiendo mal a la terapéutica

De evolución crónica es cuando no es profunda y visceral, con pronóstico razonable, al respecto del des confort físico y social llevando a los pacientes, la CMCC presenta, constante y frecuentemente, lesiones tegumentares, que llaman desde luego atención á primera vista, sugiriendo el diagnóstico. Las manifestaciones tegumentares antes enumeradas pueden ser encontradas todas, o apenas algunas de ellas.

Son frecuentes las localizaciones orofaríngeas, tales como estomatitis difusa cremosa con aspecto de gránulos de leche coagulada o como si fuese una película húmeda, brillante, nacarada, continua o discontinua, prominente este aspecto en la lengua. La apariencia en general leucoplasiforme a veces es acentuada por la hiperqueratosis, recibiendo esta la clásica denominación de leucoplasia por *Candida*.

Manifestaciones frecuentes son el intertrigo micótico por *Candida* el cual es constante comprometiendo a las uñas tornándose irregulares, delgadas, friables, amarillentas, acompañadas de intensa paroniquia con entumecimiento de las extremidades de los dedos

Otras lesiones pueden localizarse en las mucosas orofaríngeas, como también: comprometiendo el tubo gastrointestinal, debiéndose no olvidar la esofagitis, manifestaciones bronco-pulmonares, bálano-prostatitis, vulvovaginitis, uretritis y cistitis, las lesiones cutáneas e inguinales pueden presentar infección dermatofítica, en particular por *Trichophyton*, y bacteriana asociada, la presencia de bacterias patógenas en asociación con *Candida* ocurre también en las mucosas.

El comprometimiento profundo y visceral no es prominente

Cuando hay compromiso visceral o de estructuras profundas, el cuadro clínico-patológico obviamente se agrava y con él, el pronóstico.

Inicio generalmente en la infancia

En caso de invadir otro hábitat en especial, casi siempre depende de la constitución del paciente, el inicio de la CMCC es en la infancia en la mayor parte de las veces, después el carácter patológico y la evolución crónica depende básicamente en factores congénitos, ya relacionados, condicionando el transitar de los hongos del género *Candida*, de saprofitos a patógenos. Esos mismos, u otros factores condicionantes, pueden ser adquiridos en el transcurso de la vida, razón por la cual el inicio no es exclusivo en la infancia, comenzando la CMCC en joven o adulto.

Puede ser familiar

Las condiciones congénitas que tornan el terreno favorable para CMCC pueden ser hereditarias, siendo así mismo posible su ocurrencia en miembros de la misma familia.

Están presentes con elevada frecuencia, alteraciones metabólicas, endocrinopatías y deficiencia inmunológica

Las alteraciones metabólicas, endocrinopatías y deficiencias inmunológicas que tornan el terreno propicio para CMCC, ya constantes de la lista de factores enunciados, son congénitas, familiares o adquiridas y casi siempre se asocian a un mismo paciente.

Muchos casos de CMCC se relacionan con las condiciones patológicas metabólicas y endocrinas, figuran: hipoparatiroidismo, hipotiroidismo, insuficiencia timpica, insuficiencia suprarrenal, hipogonadismo, diabetes, enfermedad celíaca, anemia perniciosa, anemia hemolítica, deficiencia de hierro, deficiencia de zinc, deficiencia de transferrina, deficiencia de mieloperoxidasa y hepatopatías crónicas.

Las respuestas dependientes de la inmunidad humoral no se hallan alteradas, siendo normal la producción de anticuerpos tales como precipitinas y aglutininas. El papel de los anticuerpos no es claro en la candidiasis.

Candidíasis vulvovaginal

La vulvo-vaginitis blastomicética, determinada generalmente por levaduras del género *Candida*, principalmente la *Candida albicans*, es infección frecuente, predominando durante el período reproductor de la mujer.

Inyección sistémica han sido descritas, pudiendo el hongo atacar, durante el embarazo, al producto de la concepción.

En orden de frecuencia, la candidiasis ocupa el segundo lugar dentro de las vulvo-vaginitis, después la colpitis por *Trichomonas*.

Incidencia de la candidiasis vulvovaginal

En la mujer adulta, con actividad sexual, la candidiasis vulvo-vaginal es frecuente entre el 16 a 20% de los casos examinados. La incidencia es menor en la infancia, pubertad y climatérico. Es más frecuente en diabéticas y en las que usan píldoras anticonceptivas. Su importancia reside, también, en ser referida como la infección más frecuente en las portadoras de displasias cervicales, lesiones precursoras de carcinoma del cuello del útero

La *Candida albicans* ha sido aislada de la vagina en estudios en un 35% de la población, observándose mayor incidencia durante la gravidez, la vulvo-vaginitis en la mujer grávida ocurre en 30% de los casos y en aproximadamente 15% dichas mujeres la infección es mixta con tricomoniasis.

Etiopatogenia de la candidiasis vulvovaginal

La candidiasis afecta normalmente las zonas húmedas y cálidas de la piel y las mucosas, como las axilas, la boca, uñas, el glande y la vagina; las erupciones cutáneas asociadas con el uso de pañales suelen ser de este tipo. Representa un 25% de las micosis cutáneas.

La candidiasis es la más frecuente causa de vaginitis; se estima que tres de cada cuatro mujeres experimentan al menos un episodio de candidiasis durante su vida. *Candida albicans* es parte de la flora normal de la vagina; las condiciones patógenas pueden producirse por el uso de duchas que eliminen parte de los microorganismos que lo controlan (como los lactobacilos).

Las probabilidades de contraer candidiasis aumentan en pacientes obesos y diabéticos; el consumo de antibióticos y anticonceptivos también incrementa el riesgo, así como alteraciones hormonales debidas al embarazo.

En pacientes con deficiencia inmunológica, neoplasias, diabetes, lupus eritematoso, y linfomas, la infección puede extenderse, con consecuencias graves.

Los hongos están siempre presentes en el cuerpo humano, pero la presencia natural de otros microorganismos previene su crecimiento descontrolado. Sin embargo, perturbaciones externas, como el uso de ciertos detergentes, variaciones del pH, o internas, como cambios hormonales o fisiológicos, pueden causar alteraciones de la biota y resultar en un crecimiento anormal de los hongos.

Embarazo, uso de anticonceptivos, sexo vaginal después de sexo anal, uso de lubricantes que contienen glicerina, son factores relacionados con infección por hongos. La diabetes y el uso de antibióticos también parecen tener incidencia en la micosis. Además, la *Candida* puede transmitirse sexualmente. Los tratamientos de reemplazo hormonal y de infertilidad podrían también ser factores desencadenantes.

En cultivos del contenido vaginal revelan candidiasis asintomática en 40% de los casos, muestra datos obtenidos por diversos autores con referencia a la positividad de hongos levaduriformes en la secreción vaginal de mujeres con o sin leucorrea. Gresham & Wittle⁽³³⁾ refiere que el 25% de las mujeres, *Candida albicans* es aislada de la secreción vaginal como saprofita, la enfermedad parece depender de alteraciones locales y sistémicas del hospedero. La infección desarrolla cuando el pH vaginal disminuye y aumenta la cantidad de glucógeno, la *Candida albicans* es una levadura Gram-positiva, que se desenvuelve mejor en pH ácido, entre 3,9 y 5,0.

Factores predisponentes

1. relación hospedero-hongo.- Se sospecha que factores inmunológicos y no inmunológicos favorecen al crecimiento de la *Candida albicans*.
2. El embarazo.- el nivel elevado de estrógeno, aumenta la cantidad de glucógeno en la mucosa vaginal, con mayor acidez, facilitando el crecimiento de la levadura.
3. La Diabetes.- muy frecuente la vulvo-vaginitis en las diabéticas, relacionada con el aumento del glucógeno vaginal, señala que la incidencia de la vulvo-vaginitis micótica no difiere en gestantes y no gestantes.
4. Esteroides suprarrenales.- La administración de glucocorticóides suprarrenales favorece el desarrollo de la candidiasis sistémica, la cortisona, bien como el estradiol, estimula el desarrollo de la *Candida albicans* "In Vitro".
5. Antibióticos.- Es sabido que la antibioticoterapia prolongada favorece la proliferación de la candidiasis sistémica y localizada, el antibiótico, reacciona sobre microorganismos sensibles, facilita el desenvolvimiento de los resistentes, inclusive de la *Candida albicans*, pudiendo aparecer después de un tratamiento prolongado con cloranfenicol y tetraciclinas, vulvitis por *Candida*.
6. Ha sido observado en casos obstétricos y ginecológicos, después de la administración de soluciones hipertónicas concentradas de aminoácidos y monosacáridos.
7. Anticonceptivos.- Murillo De Linares & Marin ⁽³⁸⁾ verificaron que la incidencia de vulvo-vaginitis por *Candida* es mayor en las mujeres que utilizan anticonceptivos por vía oral por, más de un año, la fisiopatología de la infección por la *Cándida albicans* en tales condiciones no está completamente esclarecida.

Sintomatología de la candidiasis vulvovaginal

En la fase aguda surge ardor y prurito vulvar, con flujo vaginal de intensidad variable. La irritación local, supuestamente a consecuencia de una micotoxina no definida, determina disuria a consecuencia del pasaje de la orina en el área irritada, el flujo es de aspecto de leche coagulada y depositado en la ropa interior y seco, tiene aspecto arenoso, la vagina puede presentarse con edema y la mucosa de los labios menores, además de discreto eritema, a veces con pequeñas vesículas. En la fase crónica predominan flujo, prurito y disuria. Con el tiempo puede surgir micro ulceraciones.

Diagnóstico clínico

Con el espejulo, el especialista observa características del flujo, sobre la forma de placas blanquecinas adherentes a la pared vaginal y al cuello del útero, como leche coagulada y un olor característico. En general los Síntomas se exacerban en la post-menstruación importante la confirmación laboratorial, en 10% de los casos existe infección concomitante, por *Trichomonas*.

Candidiasis diseminada

En pocos casos descritos en ginecología y obstetricia, la candidiasis diseminada fue de origen iatrogénico por el uso prolongado de antibioticoterapia. El hongo se desenvuelve con frecuencia en la luz de los túbulos renales, siendo los riñones los órganos más frecuentemente afectados.

Infección congénita

Solamente en 1968 fue reconocida la candidiasis adquirida “In útero”, manifestándose en ocasión del nacimiento, son sugeridas tres hipótesis para la explicación de estos casos:

Invasión directa, por la levadura, a partir de la vagina para el líquido amniótico después de la ruptura prematura de las membranas.

A través de membranas intactas. Esta última hipótesis fue verificada en casos, con invasión y muerte del embrión.

Dalmau ⁽⁴⁰⁾ describe las lesiones resultantes de esa infección, demostrando micelio en alvéolos pulmonares y en la luz intestinal, en los prematuros es común en casos de infección intra-uterina.

Candidíasis neonatal

Es un problema pediátrico común. La Candidiasis oral en recién-nacidos cuya incidencia es de 5 a 19%, posiblemente es adquirida durante el pasaje por el canal del parto y por la deglución de partículas del contenido vaginal.

Wickerham ⁽²⁹⁾ constato que el 50% de los nacidos vivos de madres con vaginitis micótica posteriormente presentaban candidiasis, también se observó que en un 61,5% de las madres de niños con “algodoncillo” las madres estaban infectadas con *Candida albicans* vaginal en el parto y 30% manifestaran síntomas sugestivos de candidiasis durante el embarazo.

Diagnóstico de laboratorio

La toma de muestra de secreción vaginal en púberes debe ser hecha con asa de platina a través, del orificio del himen o con un especulo propio para vírgenes. En las demás, después de la colocación del especulo, que debe ser esterilizado y no lubricado, se recolecta la muestra directamente de las placas blanquecinas o del fondo-del-saco vaginal con asa de platina, espátula ginecológica o pipeta, el material debe ser impregnado en suero fisiológico y colocado entre cubre y portaobjetos para el examen microscópico.

Los filamentos son identificados con facilidad, el examen en fresco puede ser facilitado por la adición de azul de metileno, azul de toluidina o hidróxido de potasio a 10 o 20%, el examen del portaobjetos coloreado por la tinción de Gram., revela filamentos o blastosporos Gram-positivos.

No se recomienda el método de Papanicolau debido a falsos resultados negativos, se cultiva en agar Sabouraud u otros medios para levaduras. El lavado vaginal debe ser evitado, antes de la toma de muestra del material, para los casos de vulvitis, el material debe ser raspado de las áreas irritadas.

Tratamiento

En adultas, las aplicaciones vaginales son realizadas con el especulo, también en días alternados, durante dos semanas, los fungicidas, en cremas u óvulos (100.000 U), puede ser aplicada dos veces al día, durante 10 días. Externamente, en la región vulvar es importante hacer la aplicación de la crema. En vírgenes se utiliza aplacadores propios, los antimicóticos pueden ser complementados por vía oral (comprimidos de 250.000 U), 4 veces al día.

Recientemente va siendo utilizado el miconazol al 2% en crema. Debe ser aplicado diariamente, en la noche, durante 2 a 3 semanas.

Murillo De Linares & Marin ⁽³²⁾ estudiando en 535 mujeres grávidas, obtuvieron los mejores resultados con nitrato de miconazol al 2%, el clotrimazol es también de gran valor, proporcionando resultados satisfactorios, recientemente han sido demostrada buena acción fungicida. El tratamiento, en algunos casos, debe ser complementado con la aplicación de cortisona, para aliviar el prurito y la irritación vulvar. De la misma forma, lavados vaginales con bicarbonato de sodio al 1%, inicialmente alivian los síntomas.

El criterio de cura se basa con tres cultivos sucesivamente negativos, con dos semanas de intervalo, iniciándose una semana después del término del tratamiento. Nuevas infecciones pueden ocurrir, en la dependencia del grado de higiene Vaginal, vida sexual y otros factores.

5.5 Marco operativo

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en la nueva infraestructura del Instituto Experimental de Biología Dr. Luis Adám Briancon de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la U.M.R.P.S.F.X.CH. Específicamente en los Laboratorios de Microbiología y Parasitología Clínica. La población considerada en el presente estudio abarcó a las gestantes que concurrieron al hospital Gineco-obstétrico en el mes de Abril y Mayo del año 2011.

De esta población se seleccionó como muestra a 100 gestantes, de los 3 consultorios activos a consultas, tanto ginecológicas como obstétricas, que el hospital ofrece a todas las mujeres que acuden.

5.6 Métodos de investigación

Método Teórico

Consistente en la revisión de bibliografía relevante para el estudio. Este método se aplicó para obtener información teórica requerida para el desarrollo del trabajo de investigación.

Método Analítico y Sintético

Por las características de este método, se utilizó, principalmente, en la construcción del marco contextual, y establecer la situación real y sistematizar los datos obtenidos en el trabajo de campo.

Inducción y deducción

El valor de éste método en la investigación está dado porque permitió contribuir en la fundamentación teórica de la investigación, además de establecer generalizaciones sobre la base del estudio de fenómenos singulares, por lo que este método se aplicó, principalmente, en el trabajo de campo que se realizó.

Estadística

Como respaldo científico a los resultados obtenidos en la investigación que valida el estudio realizado.

Recolección de información

Fuentes de recolección

Luego de determinados los métodos que se emplearon, se establecieron las técnicas para la recolección de información necesaria para realizar el trabajo de investigación.

Las técnicas utilizadas fueron:

Revisión bibliográfica

Se la realizó en base a la recolección de información de libros, revistas, publicaciones e Internet, claves para determinar el marco contextual, marco teórico y operativo del presente trabajo de investigación

La otra fuente de información se basó, netamente, por las muestras biológicas recolectadas de manera directa de las pacientes que acudieron al Hospital Gineco- Obstétrico

Instrumentos de recolección

Toma de muestra de exudados vaginales

Muestra

Criterios de inclusión

En el estudio se tomó en cuenta a las mujeres embarazadas que asistieron a su control prenatal

Criterios de exclusión

1. Mujeres que asistieron por consultas ginecológicas.
2. Mujeres que volvían por re-consulta.
3. Mujeres que no quisieron hacerse la prueba.

Métodos de recolección

Recolección de la muestra

El diagnóstico de la micosis comenzó con las descripciones molestas e incómodas que la paciente refirió ante la consulta con el doctor, en vista a la sospecha clínica el doctor en sala recurrió a la toma de muestra de exudado con aumento de flujo vaginal, con previa aceptación de la paciente, con ayuda de un hisopo estéril la muestra es tomada del fondo de saco y/o endocervix.

Posteriormente con el mismo hisopo se realizó la siembra en el medio con agar Sabouraud con Cloranfenicol, continuando se realizó el frotis en el portaobjetos fijando la placa al calor de un mechero. Se enumeró tanto placas como tubos.

Al final de la jornada las muestras fueron transportadas al Instituto Experimental de Biología Dr. Luis Adám Briancon de la Facultad de Farmacia y Bioquímica.

Los tubos fueron colocados a incubación de 37°C con la fecha correspondiente al día que fueron tomadas, para así tener un mejor control de tiempo de incubación y las placas eran acumuladas para ser posteriormente teñidas.

Identificación de levaduras del género candida

Examen directo.- Es el método más simple y más rápido para establecer un diagnóstico presuntivo de micosis, ya que no necesita de incubación. Las placas fueron observadas con una previa Tinción de Gram.

Fundamento de la tinción de Gram

Se basa en la diversa coloración que toman cada uno de los grupos de bacterias puesto que el grupo de bacterias Gram (+) se tiñen azul y el otro grupo que son las Gram (-) se tiñen de color rosa. Las

Levaduras de los hongos de candida son Gram Positivas. Procedimiento de la tinción de Gram (Técnica convencional)

1. Cubrir el portaobjeto (frotis) con el primer colorante básico como es la violeta de genciana y se espera 1 min.
2. Se enjuaga con agua corriente con la ayuda de una pizeta.
3. A continuación, se vierte en el portaobjetos un mordiente como es el lugol que actuara como fijante del anterior colorante.
4. Una vez transcurrido 1 min. Se enjuaga con agua corriente.
5. Luego se vierte sobre el portaobjetos acetona y/o alcohol de 96° y se deja por 20 segundos, después se enjuaga con agua.
6. Finalmente se vierte el segundo colorante o colorante de contraste que es la fucsina básica y se espera entre 1 y 2 min y se lava con agua corriente, hasta quitar el exceso y se deja secar.

Se lleva a microscopio. La observación se hizo con aceite de inmersión a 100x.

Las formas observadas fueron de levaduras, presencia de pseudomicelio en los casos positivos y obviamente la ausencia, son los casos negativos.

Cultivo

Para el aislamiento primario de las muestras se utilizó medios de cultivo en Agar Sabouraud clásico, con la incorporación de Cloranfenicol, este es muy adecuado para el crecimiento de casi todos los hongos filamentosos y levaduras al mismo tiempo que inhiben a una gran mayoría de bacterias. Una vez obtenido el agar se vertió en tubo o en placa, en este caso se utilizó tubos de ensayo.

Fundamento del cultivo en Agar Sabouraud con Cloranfenicol

Se basa en la alta concentración de dextrosa y la acidez del pH que hacen de éste un medio selectivo para hongos. Con la adición de Cloranfenicol.

Este medio es apto para el desarrollo de hongos, cumpliendo así su acción antibacteriana el Cloranfenicol, puesto que en este tipo de muestras es frecuente la presencia de bacterias.

Procedimiento

Agar Sabouraud con Cloranfenicol SAB+C

Dextrosa	40g.
Peptona	10g.
Agar	15g.
Cloranfenicol	0.20g.
Agua Destilada	1 litro.

Disolvimos el Agar en un tanto del agua destilada caliente después de unos minutos de disolución se agregó la Dextrosa y se agito, así mismo, se colocó la peptona y finalmente el cloranfenicol y se enrazo al volumen final 1 litro. Se vertió en tubos de ensayo y se llevó a la autoclave.

Siembra de la muestra

Como ya se mencionó anteriormente, dentro del consultorio se realizó la toma de muestra con el hisopo estéril, posteriormente se realizó la siembra del exudado vaginal en los tubos con Agar SAB+C ayudados por el mechero de alcohol se logró una adecuada siembra así mismo se cumplió todos los pasos de bioseguridad para el personal que colaboró, Dr. en Ginecología, Lic. En Enfermería, Internista de Medicina y la postulante.

Las muestras fueron transportadas al Instituto de Experimentación e incubadas en las estufas de 37°C del Laboratorio de Microbiología por un lapso de 48 a 72Hrs.

La positividad de presencia de Levadura Candida fue correlativa con las lecturas de los frotis, puesto que cada paciente tenía un tubo cultivado y un portaobjetos con frotis.

Entonces con un examen macroscópico fueron descartados aquellos tubos que a simple vista mostraban un cultivo pulcro, además de confirmar la negatividad en el examen directo.

Siendo positivos aquellos tubos de ensayo con cultivos, que a simple vista mostraban grumos o placas blancas o blanco-amarillentas, colonias cremosas brillantes y redondeadas.

La resiembra

La resiembra se realizo a partir de aquellos tubos positivos, caracterizados por la presencia de grumos o placas blancas o blanco-amarillentas, colonias cremosas brillantes y redondeadas

Prueba del Tubo Germinativo

Fundamento.- La formación de Tubo Germinativo se basa en la búsqueda del crecimiento de filamentos finos o tubos germinativos que crece en una célula.

Esta prueba es fidedigna, confiable y específica para la identificación de *Candida albicans*, la misma es muy utilizada en laboratorio pues es muy rápida.

Procedimiento

Para permitir la precisión en esta prueba se utilizó un sistema muy básico, que consiste en la recolección de sueros humanos remanentes de aquellos que han sido empleados en los exámenes de rutina y que no presentaron ictericia, hemolisis ni lipemia, conocido también como Pool de Sueros.

1. Se dispuso 20 tubos de ensayo sobre una gradilla de madera, enumerados correspondientemente a las 20 cepas dispuestas a ser identificadas.
2. Con ayuda de una pipeta en cada uno de ellos, se colocó 1ml del Pool de Sueros.
3. Se esterilizó el asa de platino a la flama del mechero Bunsen hasta que esta quedó al rojo vivo entonces se procedió a recoger una pequeña cantidad de la primera siembra de 1 a 2 colonias, cultivadas previamente en Agar SAB+C 3 días previos a esta prueba, posteriormente se inoculo en el tubo de ensayo N° 1.
4. Se procedió a esterilizar el asa, a cerrar el tubo así también la caja de Petri que le correspondía.
5. Se realizó una suspensión en el suero con la colonia N° 1 y así sucesivamente hasta terminar con las 20 muestras. Se llevó a incubación por 90 minutos a 37°C.
6. Transcurrido el tiempo, con 2 gotas de la suspensión se llevó a observación microscópica, con objetivo de 10x y 40x.
7. Se encontró presencia de tubos germinativos, es decir células con apéndices en uno de los extremos.
8. La observación microscópica se realizó en 2 ocasiones más, con lapsos de 60 minutos.

Las lecturas fueron positivas con la formación de tubo germinativo en todas las muestras, a los 60 minutos.

Formación de Clamidosporas

Fundamento.- Al ser los Clamidosporas esporas asexuadas con pared espesa, comúnmente rica en material lipídico y glucógeno la Prueba se basa principalmente en el medio de cultivo con Agar Harina de Maíz junto al Tween 80 que disminuye la tensión superficial en el medio, favoreciendo la formación de la Clamidosporas.

Procedimiento (Método de rivalier y Sendel)

Agar Harina de Maiz.....	40g.
Agar Sabouraud.....	20g.
Tween 80(sorbitana polioxietileno monoleato).....	10 ml.
Agua destilada	1 lt.

1. Se disolvió el Agar harina de maíz en un tanto de agua caliente, después de unos minutos se añadió el Agar Sabouraud y finalmente el Tween 80, se enraza con agua a un volumen de un litro.
2. Se vertió 10ml en cada uno de los tubos de ensayo y se llevó a autoclave.
3. Posteriormente se realizó los microcultivos en los portaobjetos, distribuyendo un tubo de ensayo para cada portaobjetos hasta formar una película sobre el mismo.
4. Después de la solidificación del medio, con ayuda de un asa esterilizada a la llama, se sembró finas estrías, recubriendo el lugar con cubreobjetos una a una, en conjunto las placas se introdujeron a una caja de vidrio proporcionando humedad a la misma con torundas empapadas en agua destilada, manteniendo así la humedad necesaria para el crecimiento de la levadura. Se cerró la caja de vidrio con papel madera.
5. La incubación se efectuó a 37°C durante 3 días, procediéndose después al examen microscópico para observar la morfología de la levadura.

Las lecturas son: la producción de una Clamidospora en posición terminal es correspondiente a la especie *Candida albicans* y la formación de dos Clamidosporas en posición terminal en el micelio es correspondiente a la *Candida stellatoidea* como se muestra en la figura Número 1 (pág. 22)

Zimograma

Fundamento.- El Zimograma se basa en el Método de Van Der Walt, entonces la fermentación de Carbohidratos por las levaduras, se debe evidenciar la formación de Dióxido de Carbono detectadas a través de los Tubos de Durham.

Procedimiento del medio para la prueba de Asimilación de Carbono

Peptona.....	2.5g.
Extracto de Levadura.....	2.5g.
Agua Destilada.....	1 lt.

1. Se disolvió la Peptona en un tanto de agua caliente, después de unos minutos se añadió el Extracto de Levadura, enrazando el agua a un volumen de un litro.
2. Con ayuda de una pipeta se colocó 5ml de la Solución a 80 tubos de ensayo.
3. Mientras tanto se realizó las diluciones de los azúcares al 2% en agua destilada, en el siguiente orden: Glucosa (GLU); Maltosa (MAL); Sacarosa (SAC) y por último Lactosa (LaC).

4. Dispuestos los tubos en columnas de 4, a la primera fila se vertió 1ml de la disolución de Glucosa, a la segunda fila de Maltosa, a la tercera y cuarta fila Se dispuso la disolución de Sacarosa y Lactosa respectivamente, se agito levemente para mezclar los 5ml del medio con el ml de cada disolución y para no mojar los tapones de algodón que cada uno llevaba.
5. En base a la abreviatura utilizada anteriormente, se etiqueto todos los tubos con el azúcar que le correspondía para evitar confusión así como para facilitar una posterior lectura de resultados.
6. Después de ser auto-clavados los 80 tubos de ensayo, con ayuda del asa esterilizada, se colocó el inóculo respectivo, a los 4 tubos de la primera columna se inoculó la muestra número uno, a la 2da columna el inóculo número dos y así sucesivamente hasta terminar las 20 columnas, vale redundar, las 20 muestras positivas.
7. Finalmente, con ayuda de una pinza esterilizada para introducir boca abajo los Tubos de Durhan, de forma cuidadosa y ordenada, tapados uno por uno todos los tubos se llevó a incubación de 37°C, el control del tiempo se realizó a diario y finalmente la lectura se la hizo al cabo de los 8 días.

Las lecturas son: Se consideró los tubos positivos aquellos que a simple vista muestran la presencia del gas de dióxido de carbono CO_2 , como una burbuja dentro del tubo de Durhan.

Tanto en la *Candia Albicans* como en la *Candida stellatoidea* se observó la fermentación del azúcar con un burbuja de gas en la Glucosa como en la Maltosa y una ausencia de gas en la Sacarosa como en la Lactosa.

Auxonograma

Fundamento.- Se basa en el método de Beijerinck, el cual muestra la asimilación de fuentes de carbono cuando se utiliza en el medio solido libre de cualquier fuente de carbono. En el caso de demostrar la habilidad de la levadura en utilizar el Nitrato como única fuente de Nitrógeno, se varía apenas la composición del medio basal (libre de Nitrógeno).

En el presente trabajo se realizó el siguiente:

Procedimiento del medio para la prueba de Asimilación de Carbono

Sulfato de Amonio $(\text{NH}_3)_2\text{SO}_4$	5g.
Fosfato de Potasio monobásico KH_2PO_4	1g.
Sulfato de Magnesio $\text{Mg}_2\text{SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0.5g.
Agar	20g.
Agua Destilada	1 Lt.

1. En un matraz Erlen Meyer se disolvió el Agar en un tanto del agua destilada caliente después de unos minutos de disolución se agregó el Sulfato de Amonio y se agito, así mismo se colocó el Fosfato de Potasio monobásico y finalmente el Sulfato de Magnesio y se enrazo al volumen final 1 litro. Para mejor disolución se llevó a calor de una hornilla eléctrica, agitando suavemente la mezcla.
2. Se vertió 5 ml del medio a 20 tubos de ensayo, una vez tapados los mismos se los llevo a autoclave.

3. Paralelamente se dispuso de 20 cajas de Petri descartables y se enumeró cada caja del 1 al 5 correspondiendo al número 1 la Glucosa, al número 2 la Galactosa, al 3 con Lactosa, al número 4 con Maltosa y finalmente al 5 con Sacarosa.

Para evitar confusiones así mismo para posteriormente facilitar la lectura se etiqueto los números con las siguientes siglas GLU; GAL; LaC; MAL y SAC, correspondientes Al orden de los azucares de la Tabla identificación de levaduras del genero candida.

4. La disposición de los números se basó en forma pentagonal, guiados mediante la disposición que se utiliza en el antibiograma.
5. En este paso se consideró de sobre manera, la importancia de la temperatura del medio de cultivo para la prueba de asimilación de carbono, puesto que se requería que el medio no esté “ni tan caliente para matar la cepa al momento de la inoculación; ni tan frio que se solidifique y no se pueda homogenizar la muestra en el medio ni se pueda verter a la caja de Petri. Los tubos fueron llevados a Baño María.
6. Entonces con el asa estéril, se recogió entre 2 a 3 colonias de la cepa madre, de la muestra número uno y se la deposito en el tubo de ensayo número uno, se agito suavemente para homogenizar la cepa en el medio, posteriormente se vertió la suspensión a la caja de Petri descartable marcada con el número uno en la tapa y se dejó sobre el mesón, semi-tapada, para que el calor no empañe la tapa y el agua del vapor no influya en el ensayo posteriormente.
7. Una vez solidificado los medios se colocó caja por caja, con espátulas descartables e individuales las siguientes fuentes de carbono, 1.Glucosa, 2.Galactosa, 3.Lactosa, 4.Maltosa y 5.Sacarosa. Completas las 20 muestras con los 5 azucares se llevó a incubación a 37°C por el lapso de 72Hrs.

Las lecturas son: En los casos positivos se observó la formación de un halo de crecimiento alrededor del carbohidrato asimilado y en los casos negativos no se vio la formación del halo.

En cuanto a las muestras biológicas propias de la candida albicans se observó asimilación de los carbohidratos en la Glucosa, Galactosa, Maltosa y Sacarosa exceptuando la Lactosa. Y en las muestras típicas de la candida stellatoidea se observó asimilación en los azucares tales como la Glucosa, Galactosa y Maltosa exceptuando la Lactosa y Sacarosa.

Procesamiento de la información

Revisión

- Se realizó la tabulación de datos de las pacientes, en base a las muestras biológicas procesadas.
- Se clasificó al agente causal del cuadro micológico.

Clasificación

La clasificación se realizó en escalas cualitativas y cuantitativas, de acuerdo a lo que nos interesó determinar en éste estudio.

Selección de Datos

Se tomó en cuenta como datos aceptables, aquellos arrojados por pruebas que respondieron a condiciones impuestas.

Recuento

Los datos fueron sometidos a un recuento de los resultados obtenidos, los mismos fueron cuantificados por especies.

Presentación

La presentación de los resultados se realizó mediante cuadros y gráficas de acuerdo a las variables elegidas en el presente estudio.

Análisis de Información

De acuerdo a las variables con las que contamos, usamos las siguientes medidas para la verificación de resultados.

Determinación de la muestra

Universo

El universo de la investigación estuvo constituido por pacientes que acudieron al hospital gineco-obstétrico “Dr. Jaime Sánchez P.” con cuadros clínicos sospechosos de micosis vulvo-vaginal.

Muestra

La muestra de estudio, estuvo constituida por exudados vaginales

Unidad de investigación

La unidad de la investigación, fue la paciente con vulvo-vaginitis.

Variables

Especie

Género

Hongo

5.7 Resultados

La gestante es susceptible tanto a la colonización como a la infección vaginal por levaduras *Candida*.

De las 100 gestantes en estudio, que acudieron al Hospital Gineco-Obstetrico en el periodo comprendido entre Abril y Mayo del año 2011, se observó que los casos positivos con candidiasis vulvovaginal, presentaron presencia de la especie *Candida albicans*.

a) Resultados preliminares

Una vez concluida la recolección de las muestras biológicas, se tabuló los resultados y se pudo observar lo siguiente:

Según las muestras, del total de gestantes, el 20 por ciento se encontró con infección de candidiasis vulvo-vaginal y el 80 por ciento no cursaba por ninguna infección de candidiasis.

Por otro lado, el 20% del total de gestantes padecieron Candidiasis, mediante la observación directa de levadura del género candida, mientras que el 80% son casos negativos, al no observarse ningún tipo de levadura.

b) Resultados finales específicos

Luego de la aplicación de las pruebas preliminares se recurrió a la aplicación de pruebas específicas para la identificación de las especies del género candida.

De los casos positivos para la búsqueda de Tubos Germinativos para hongos del género Candida se pudo determinar que el 18% de las pacientes presentan una candidiasis vulvo-vaginal por la especie Candida albicans y el 2% por la especie Candida Stellatoidea.

En cuanto a la formación de clamidiosporas para la identificación de hongos del género candida, se observó la formación de clamidiosporas en un 100%.

De acuerdo a la producción de clamidiosporas en relación a su morfología, del género candida, 90% presentaron una clamidiospora terminal típico de la candida albicans, mientras que el 10% tenía 2 clamidiosporas terminales, correspondientes a la candida stellatoidea.

En la técnica del Zimograma se vio la fermentación de los hidratos de carbono típicos de la Candida albicans en un porcentaje de 90, y con un 10% la candida stellatoidea.

Sobre la identificación de Auxonograma, el 90% de las muestras biológicas mostraron asimilación de los carbohidratos de la Glucosa, Galactosa, Maltosa y Sacarosa exceptuando la Lactosa típico de la candida albicans, mientras que el 10% mostraron asimilaciones de azúcares tales como la Glucosa, Galactosa y Maltosa exceptuando la Lactosa y Sacarosa típicas del candida stellatoidea.

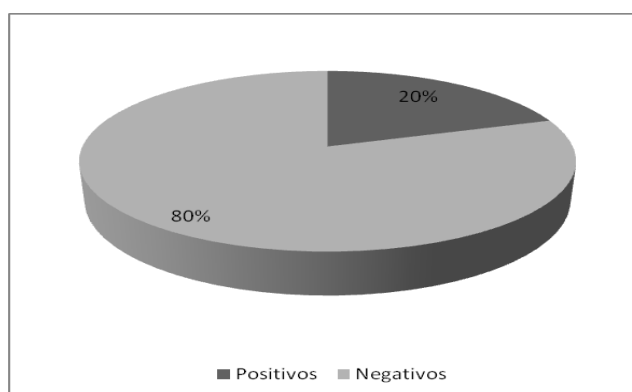
Del 100% de las especies identificadas en el presente trabajo, el 90% fueron candida albicans y el 10% restante fueron candida stellatoidea.

5.7 Presentación de los resultados

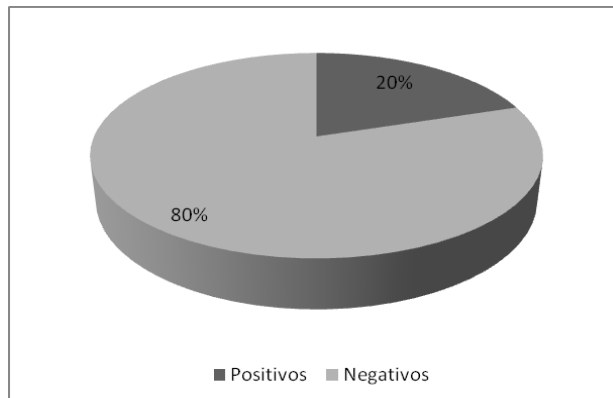
Resultados preliminares

Tabla 5.1 Casos positivos y negativos del total de muestras procesadas Sucre - 2011

Casos	Muestra	Porcentaje
Positivos	20	20%
Negativos	80	80%
Total	100	100%

Grafico 5 Total de muestras procesadas**Tabla 5.2** Casos positivos y negativos mediante la observación directa para levadura del genero candida Sucre – 2011

Casos	Muestra	Porcentaje
Positivos	20	20%
Negativos	80	80%
Total	100	100%

Grafico 5.1 Casos positivos y negativos mediante la observacion directa para levadura del genero candida

Resultados finales específicos

Tabla 5.3 Casos positivos y negativos para la identificación de la prueba del tubo germinativo para hongos del genero candida, Sucre – 2011

Tubos Germinativos	Muestra	Porcentaje
Tubo Germinativo C. albicans	18	90%
Tubo Germinativo C. stellatoidea	2	10%
Total	20	100%

Grafico 5.2 Casos positivos y negativos para la identificación de la prueba del tubo germinativo para hongos del genero candida, Sucre – 2011

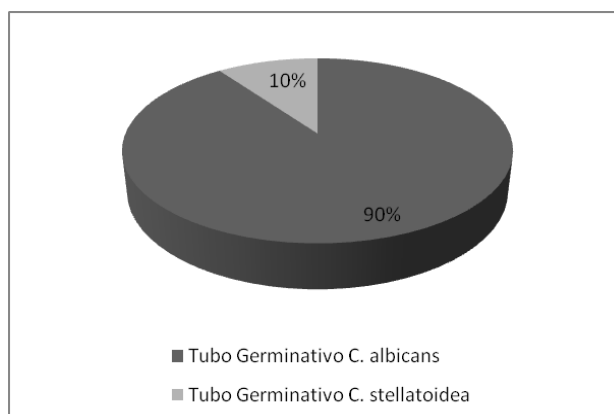


Tabla 5.4 Casos positivos para la formación de clamidosporas para la identificación de hongos del genero candida Sucre – 2011

Formación de Clamidosporas	Muestra	Porcentaje
Positivos	20	100%
Negativos	0	0%
Total	20	100%

Grafico 5.3 Casos positivos para la formación de clamidosporas para la identificación de hongos del genero candida Sucre – 2011

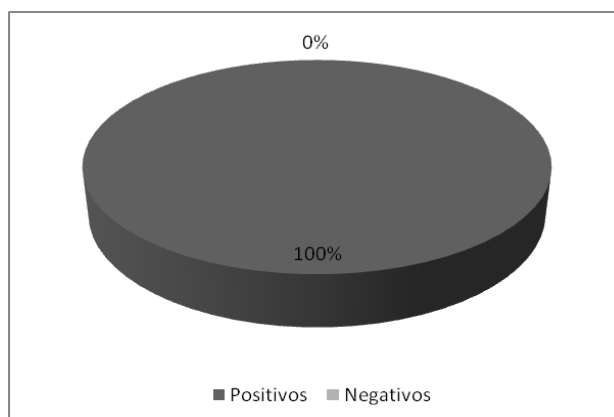


Tabla 5.5 Casos positivos de producción de clamidosporas de acuerdo a la morfología de hongos del genero candida Sucre – 2011

Formación de Clamidosporas	Muestra	Porcentaje
1 clamidospora terminal (Candida albicans)	18	90%
2 clamidosporas terminal (Candida stellatoidea)	2	10%
Total	20	100%

Grafico 5.4 Casos positivos de producción de clamidosporas de acuerdo a la morfología de hongos del genero candida

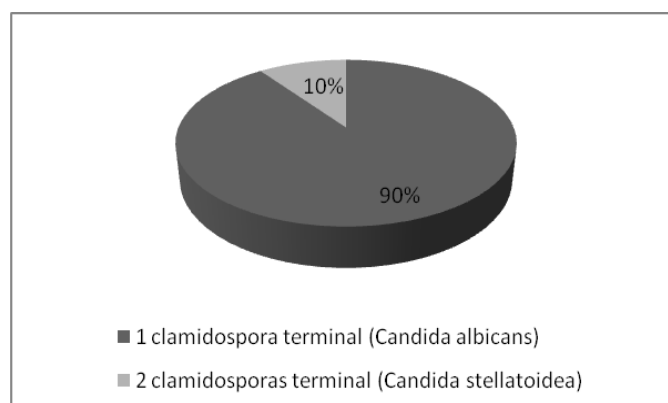


Tabla 5.6 Casos identificados según la técnica de zimograma Sucre – 2011

Especie	Muestra	Porcentaje
Candida albicans	18	90%
Candida stellatoidea	2	10%
Total	20	100%

Figura 5.5 Casos identificados según la técnica de zimograma Sucre – 2011

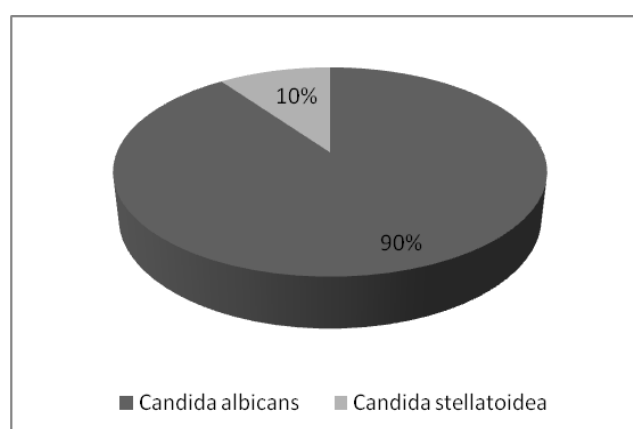
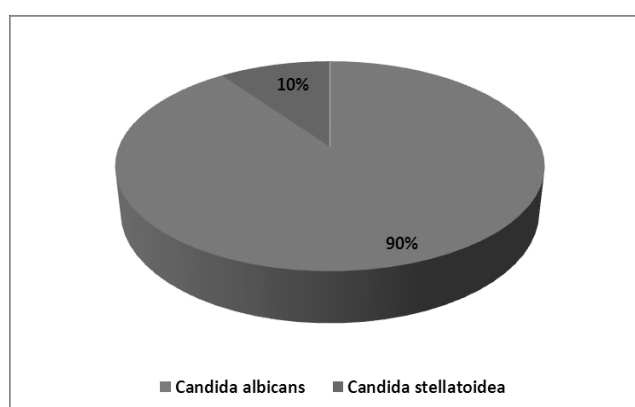


Tabla5.7 Referencia

Carbohidratos	Glucosa	Maltosa	Sacarosa	Lactosa
Especies				
Candida albicans y candida stellatoidea	Ag	Ag	-	-

Tabla 5.8 Casos identificados según la técnica de auxonograma Sucre – 2011

Especie	Muestra	Porcentaje
Candida albicans	18	90%
Candida stellatoidea	2	10%
Total	20	100%

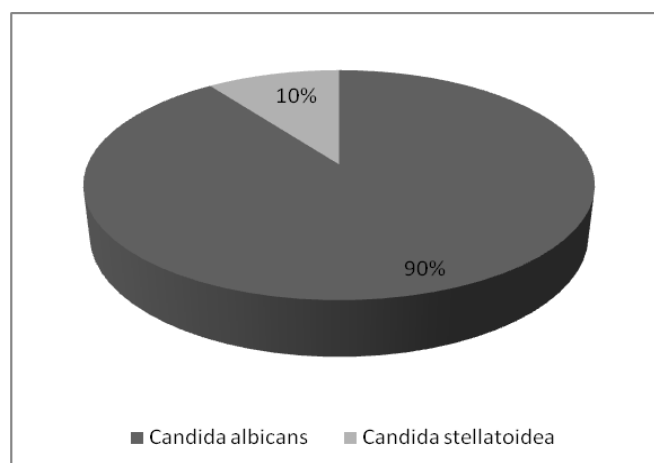
Grafico 5.6 Casos identificados según la técnica de auxonograma Sucre – 2011**Tabla 5.9** Referencia

Carbohidratos	Glucosa	Galactosa	Lactosa	Maltosa	Sacarosa
Especies					
Candida albicans	+	+	-	+	+
Candida stellatoidea	+	+	-	+	-

Tabla 5.10 La identificación de las especies del género candida en candidiasis vulvovaginal en gestantes que acuden al hospital gineco obstetrico dr. Jaime sanchez porcel sucre 2011

Especie	Muestra	Porcentaje
Candida albicans	18	90%
Candida stellatoidea	2	10%
Total	20	100%

Grafico 5.7 La identificación de las especies del género candida en candidiasis vulvovaginal en gestantes



5.8 Análisis y discusión

- La etapa gestacional de este grupo etareo de mujeres es un factor muy importante es este tipo de infección debido a los cambios fisiológicos, bajas defensas del organismo y los malos hábitos de higiene.
- Se debe señalar que las pacientes que dieron resultados positivo con el examen directo de igual manera mostraron positividad para hongos tipo Candida con el cultivo en agar sabouraud (aislamiento primario).
- Además se debe hacer notar que con la prueba del tubo germinativo se confirmó todos los resultados previos, de las gestantes con resultados positivos. Considerando la prueba del tubo germinativo es rápida y confiable para la identificación de Candida albicans.
- Se debe destacar la importancia de los cuidados que este tipo de pacientes necesitan y requieren para la mejoría de su salud.

5.9 Conclusiones y recomendaciones

Conclusiones

- La Candidiasis vulvo-vaginal es una infección que afecta principalmente a pacientes en etapa gestacional, debido a los cambios fisiológicos y bajas defensas del organismo propias del embarazo, por lo tanto es de suma importancia el estudio de la Candidiasis Vulvo-vaginal y por ende el presente trabajo aborda uno de los problemas de salud más frecuentes, considerándose como universo potencial a las personas en estado de embarazo que asisten al Hospital Gineco-Obstétrico Dr. Jaime Sánchez.

- Se ha determinado que la Candidiasis albicans en personas embarazadas es muy frecuente y que el 20% de estos pacientes presenta el crecimiento del hongo del género Candida y el 80% no desarrolló crecimiento de dicho hongo en el medio de cultivo de Agar SAB+C
- Se debe señalar que en la prueba del tubo germinativo el 100% de las muestras de las pacientes con candidiasis dieron positivo para el hongo del genero Candida. El método es fácil de aplicar, altamente confiable y muy útil para la identificación de las especies más importantes de Candida en aislamientos vaginales. Es relativamente de bajo costo y puede tener el resultado de la especie aislada en menos de 24 horas.
- Los métodos utilizados en base a los compuestos de carbono como la fermentación y la asimilación de las fuentes de carbono y de hidrogeno intificaron 90% como C. albicans y el 10% como C. stellatoidea.

Recomendaciones

- Por lo que hasta aquí se observó del trabajo en cuestión, se puede recomendar lo siguiente:
- Socializar el presente trabajo entre todos los centros médicos para que en función a la magnitud de este problema social se establezca como un examen rutinario la identificación de la C. albicans mediante las técnicas mencionadas anteriormente.
- Sugerir a los Bioquímicos en el área de micología, disponer de técnicas adecuadas, rápidas y confiables, como la prueba de tubo germinativo como parte del diagnóstico para candidiasis vulvo-vaginal, brindando al médico clínico en el proceso diagnóstico de las infecciones fúngicas, colaborando así en el inicio de terapias antimicóticos apropiadas y precoces.
- Concientizar a las mujeres embarazadas a mejorar sus hábitos higiénicos, haciendo hincapié sobre el riesgo que implica el no tener buenos hábitos de higiene.

5.10 Agradecimientos

La investigadora agradece a la Facultad de Ciencias Químico Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor, Real y Pontificia de San Francisco Xavier de Chuquisaca por el apoyo brindado en el desarrollo del presente trabajo

5.11 Referencias

- (1) “Bolivia” de Elías. Edición año 2003. La Paz-Bolivia.
- (2) Honorable Alcaldía Municipal de Sucre. Disponible en: <http://www.sucre.gob.bo/pdm-> 2010
- (3) Instituto Nacional de Estadística. 2006.
- (4) Instituto Nacional de Estadísticas. Anuario Estadístico 2006.
- (5) Plan estratégico “Hospital Gineco-Obstétrico “Dr. Jaime Sánchez Porcel” 2004
- (6) <http://www.monografias.com/trabajos19/candida/candida.shtml#pato>
- (7) LaCAZ, C. da S. Classificação das leveduras. 2004. p. 109-120.
- (8) Johnson, S.A.M. Candida (Monilia) albicans. 2001. P. 70: 49-60.

- (9) Mackenzie, D.W.r. Morphogenesis of *Candida albicans* in vivo. *Sabouraudia* 3: 225-232, 2001.
- (10) Reynolds, R. & Braude, A. The filament inducing property of blood for *Candida*, 2000.
- (11) Burckley, H.r. "Methods in Microbiology", 2002, v. 4. p. 466-468.
- (12) Ahearn, D. G. Roth, F.J. Jr.; Fell, J. W. & Mayers, S. P.-Use of shaken cultures in the assimilation test for yeast identification., 2004.
- (13) Joshi K. r.; Gavin, J. B. & Wheeler, E. E, A scanning electron microscopic study of the morphogenesis of *Candida albicans* in vitro., 2000
- (14) Gentles, J. C. & La Touche, C. J. *Biology of Yeasts*. 2003. v. 1. p. 107-182.
- (15) Joly, S. Contribuição ao estudo da sistemática de leveduras ocorridas em frutos maduros, 2003.
- (16) Van Uden, N. & Carmo-Sousa, L. *Candida slooffii*, a thermophilic and vitamin deficient yeast from the equine intestinal tract., 1999.
- (17) Berikhou, C. M. De Schimmelgeschlachten *Monilia*, *Oidium*, *Oospora*, 2003.
- (18) Van Uden, N. & Carmo-Sousa, L. *Candida slooffii*, a thermophilic and vitamin deficient yeast from the equine intestinal tract., 2000.
- (19) Langeron, M. & Guerra, P. *Nouvelles recherches de zymologie médicale*, 2003.
- (20) Diddens, H. A. & Lodder, J. "Centraalbureau voor Schimmelcultures", 2006.
- (21) Lodder, J. & Kreger-Van rij, N.J.W. *The Yeasts*. 2001.2002. p. 1-62.
- (22) Bakerspigel, A. Soil-extract agar for *Candida albicans*. *P. 69*: 735-737, 2003.
- (23) Silva-Hutner, M. & Cooper, B.H. *Manual of Clinical Microbiology*, 2003. p. 491-507.
- (24) Barnett, J. A. & Pankhurst, R. J. *American Elsevier Publishing Co.*, 2004, p. 9, 7 1-236.
- (25) McGinnis, M. R. *Laboratory Procedures in Clinical Mycology.*, 2000.
- (26) Walt, J. P. VanDer. Criteria and methods used in classification. 1999. p. 34-113.
- (27) Davenport, R. R. *Mycology and Taxonomy of Fungi in Fruit Juices*. 2003.
- (28) Beijerinck, M. W. L'auxanographie, ou la méthode de l'hydro diffusion dans la gélatine appliquée aux recherches microbiologiques, 2000.
- (29) Wickerham & Burton L. J. A critical evaluation of the nitrogen assimilation tests commonly used in the classification of yeasts., 2004.
- (30) Kapica, L.; Clifford, A. & Noik, M. *Mycopath, Myc.*, 2000.
- (31) Rivalier, E. & Seydel, S. Cultures minces sur lames gélosées, colorées et examinées "in situ" en préparations définitives pour l'étude des Cryptogames microscopiques, 2002.
- (32) http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S037507602006000300014&script=sci_arttext&tlng=es

- (33) Gresham, G. A. & Wittle, C. H. Studies of the invasive mycelial form of *Candida albicans*. *Sabouraudia* 1: 30-33, 2001.
- (34) Hurley, r. The pathogenic *Candida* species, 2003.
- (35) Louria, D.B.; Fallon, N. & Browne, HG. The influence of cortisone on experimental fungus infections in mice, 2002.
- (36) roth, F.J. Jr.; Syverton, J.T. & Friedman, J. The effects of rontgen radiation and cortisone upon experimental moniliasis, 2001.
- (37) Winner, H.I. & Hurley, r. Culture media. *Experimental Candidosis*, 1994. p. 193-213.
- (38) Murillo De Linares, L. & Marin, C. *Proceedings of the Fourth International Conference*, 2003. p. 124-133
- (39) Taschdjian, C. L.; Burchall, J. J. & Koznin, P. J. rapid identification of *Candida albicans* by filamentation on serum and serum substitutes. 212-215, 1999.
- (40) Dalmau, L.M. *remarques sur la technique mycologique*, 2002.
- (41) Christensen, W. B. Urea clecomposition as a means of differentiating *Proteus* and *Paracolon*, 2004.
- (42) Carlos Da Silva Lacaz (org)- *Candidiasis I.*, 2001.