

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA  
LABORATORIO CLINICO**



**AISLAMIENTO DE DIFERENTES ESPECIES DE LEVADURAS  
EN MUESTRAS CLINICAS DEL INSTITUTO SALVADOREÑO  
DEL SEGURO SOCIAL Y DEL HOSPITAL ROSALES"**

**TRABAJO PRESENTADO POR:**

**ANA SONIA LAINEZ DE MERLOS  
ANA YOLANDA GONZALEZ PIMENTEL**

**PARA OPTAR AL GRADO DE**

**Licenciado en Laboratorio Clinico**

**ABRIL DE 1989**



T  
616. 969  
L 186a

Ej. 1

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

FACULTAD DE MEDICINA

ESCUELA DE TECNOLOGIA MEDICA - LABORATORIO CLINICO

"AISLAMIENTO DE DIFERENTES ESPECIES DE LEVADURAS EN MUESTRAS  
CLINICAS DE PACIENTES DEL INSTITUTO SALVADOREÑO DEL SEGURO SOCIAL  
Y DEL HOSPITAL ROSALES."

PRESENTADO POR:

ANA SONIA LAINEZ DE MERLOS

ENA YOLANDA GONZALEZ PIMENTEL

SEMINARIO PRESENTADO ANTE EL JURADO CALIFICADOR DE LA FACULTAD DE  
MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR, EN SATISFACCION PARCIAL  
DE LOS REQUISITOS PREVIOS A LA OBTENCION DEL TITULO DE:

LICENCIADO EN LABORATORIO CLINICO

ASESOR:

DRA. LEONOR ISABEL MURILLO DE LINARES

ABRIL DE 1989.

I N D I C EPágina No.

- INTRODUCCION .....	1
- OBJETIVOS .....	6
- MATERIAL Y METODOS .....	7
- RESULTADOS .....	13
- CUADROS .....	19
- GRAFICAS .....	36
- DISCUSION .....	42
- APENDICE .....	51
- BIBLIOGRAFIA .....	63

AISLAMIENTO DE DIFERENTES ESPECIES DE LEVADURAS EN  
MUESTRAS CLINICAS DE PACIENTES DEL INSTITUTO SALVADOREÑO  
DEL SEGURO SOCIAL Y DEL HOSPITAL ROSALES

I N T R O D U C C I O N:

Las levaduras causan micosis con frecuencia en el humano - en todo el mundo (28). Dichas enfermedades pueden ser agudas o subagudas. Las lesiones pueden observarse en piel, uñas, vagina, boca, endocardio y meninges (8).

La infección por Candida albicans casi siempre es endógena, ya que es parte de la microflora en piel, mucosa bucal, vagina normal y en el intestino grueso de personas sanas (8).

Se ha observado que las levaduras del género Candida pueden formar parte de la flora normal de la vagina en aproximadamente 50% de las mujeres y es difícil distinguir entre colonización y la infección verdadera (17).

Nolte, en estudios hechos a muestras clínicas de la boca en diferentes grupos de niños observó que 54% de niños de 2 a 6 semanas eran portadores de levaduras. De 6 semanas a 1 año el porcentaje de niños con levaduras se redujo a 46.5% y de 1 año a 6 años se aislaron sólo en 5% de los niños. Las especies más frecuente-

mente aisladas en este estudio fueron C. albicans en 93.8% de los aislamientos, C. tropicalis en 2.1% y C. stellatoidea 1.4% y otras especies fueron encontradas en porcentajes menores al 1%.

Dato muy importante es que el porcentaje más elevado se encontró en salivas con pH ácido. El 100% de las muestras que tenían pH 5.0 presentaron levaduras (28).

El desarrollo de enfermedad por levaduras usualmente es precedido por algunos factores predisponentes entre los cuales se pueden mencionar la diabetes sacarina, tratamiento antimicrobiano, anemia ferropriva, leucemia aguda, tratamiento con corticosteroides, cateterismos urinario e intravenoso, humedad en la piel, carcinoma bronquial, bronquiectasia, lupus eritematoso, contracepción oral etc. En caso de endocarditis se pueden mencionar también como factores predisponentes la cirugía de corazón abierto y la drogadicción (8, 10, 11, 16, 27, 28). En muchos casos puede ser la primera evidencia de un defecto de inmunidad mediada por células (4). En la mayor parte de las personas con sistemas inmunológico normal, la proliferación de Candida durante la administración de antibiótico puede producir algunos efectos secundarios molestos como: prurito y edema anal o vulvar y diarrea.

En los pacientes con escasas defensas o que están bajo tratamiento con corticosteroides, la candidiasis puede ser severa y -

en muchos casos mortal (28).

En algunos pacientes la candidiasis se asocia a deficiencias endócrinas múltiples (suprarrenales, paratiroides y otras).

Esta forma de candidiasis muchas veces se observa en hermanos y se ha supuesto la existencia de una forma de herencia autosómica recesiva (4) de las deficiencias endócrinas.

La vaginitis relacionada con Candida no suele transmitirse de manera sexual; sin embargo del 10 al 15% de los compañeros sexuales masculinos permanentes de las mujeres que sufren de vulvovaginitis por Candida pueden presentar balanitis o lesiones discretas del pene, secundarias a esa levadura (17).

Se ha podido comprobar que C. albicans se aísla en un 75% de los procesos patológicos, luego le sigue C. tropicalis, C. parapsilosis (27, 6). También hay evidencia experimental de la patogenicidad de C. stellatoidea, C. pseudotropicalis y C. viswanathii (28) .

En años recientes ha habido un claro incremento de las enfermedades causadas por C. albicans y Cryptococcus neoformans. Muchas especies que se consideraban no patógenas, han sido ya reportadas como agentes de procesos patológicos. Esto es debido a la alteración de los mecanismos de defensa del huésped con ---

neoplasias y enfermedades inmunológicas o infecciosas; estos pacientes son sometidos a terapia con medicamentos que incluyen - antibióticos e inmunosupresores, los cuales pueden favorecer el desarrollo de las enfermedades causadas por levaduras.

Este fenómeno ha impulsado el desarrollo de técnicas que - simplifican el proceso de identificación de levaduras.

Tradicionalmente la identificación de Candida albicans se hace por la observación de clamidosporas en agar harina de maíz y la producción de tubo germinal en plasma citratado o albúmina de huevo.

Las otras especies de levaduras se identifican por sus patrones de fermentación, la asimilación de azúcares y la prueba de ureasa. Los métodos convencionales para esos estudios bioquímicos son laboriosos y consumen mucho tiempo. La introducción de la - microtécnica API 20 C para levaduras, que incluye el análisis de la asimilación de 19 carbohidratos ha permitido a laboratorios clínicos no especializados realizar la identificación de 39 levaduras entre ellas 16 especies del género Candida y 6 del género Cryptococcus . Además 3 especies de algas del género Prototheca, que son también patógenas para el humano, se pueden reconocer - con este procedimiento.

En nuestro medio la identificación de las levaduras se hace tomando en cuenta la morfología, la producción de clamidosporas en agar harina de maíz y en algunos casos la detección de ureasa.

Únicamente se hace identificación de C. albicans. Las otras especies se agrupan de acuerdo a su género y en muchas ocasiones es difícil discriminar si son o no patógenas.

En este estudio se identificarán por medio de técnicas convencionales y el método API 20 C. 503 cepas de levaduras aisladas de materiales clínicos en pacientes del I.S.S.S. y Hospital Rosales. El propósito de ello es contribuir a determinar el papel patógeno de las diferentes especies de levaduras en el humano y conocer mejor la epidemiología de ellas en relación al humano.



O B J E T I V O S

1. Por medio de cultivos en medio de Sabouraud y la técnica API 20 C. se determinará la diversidad de especies de levaduras que pueden aislarse de muestras clínicas humanas.
2. Se comparará la frecuencia relativa de aislamiento de Candida albicans con respecto a otras especies del género Candida y otras levaduras.
3. Se evaluará el posible papel patógeno de las levaduras aisladas, teniendo en cuenta para esto, el área anatómica de donde procede la muestra, los resultados del examen directo y la identificación final de la levadura
4. Se evaluará la técnica API 20 C en cuanto a su simplicidad y eficacia para la identificación de las especies de levaduras, usando como patrón los métodos convencionales.

MATERIAL Y METODOS

1. Población a estudiar

Se estudiaron 503 pacientes hospitalizados y ambulatorios, del Instituto Salvadoreño del Seguro Social (I.S.S.S.) de cuyas lesiones se aislaron cepas de levaduras.

Se anotó nombre, edad, sexo, número de afiliación, ocupación, localización de las lesiones, tipo de muestra, previo tratamiento con antibióticos, u otras drogas, enfermedades subyacentes etc. (ver hoja).

Todos estos datos se anotaron en un formulario que se adjunta.<sup>a</sup>

2. Clasificación de las muestras

- a) Muestras queratinizadas:           piel, uñas, úlceras.
- b) Secreciones de mucosa:            vagina, boca, faringe,  
labios, uretra, ojos.
- c) Orina y Esputo
- d) Lesiones de órganos internos tales como: líquidos cefalorraquídeos, líquidos de derrame, sangre, médula ósea.
- e) Otras.

3. Colección de las muestras

Las muestras en su mayoría fueron colectadas en el Laboratorio Clínico del Hospital General del I.S.S.S. Las muestras queratinizadas se tomaron con bisturí; las secreciones mucosas con hisopo; orina y esputo, previa instrucción, fueron colectadas por el paciente.

Las muestras de órganos internos de pacientes hospitalizados fueron colectadas en los diferentes servicios, por punción, biopsia, curetaje u otros.

4. Examen Directo

Dependiendo del tipo de muestra el examen directo se hizo:

a) al fresco con solución salina si se trata de secreciones.

b) con hidróxido de potasio al 10 - 20% si se trata de material queratinizado.

c) por tinción de Giemsa y/o Gram si se trata de esputo, líquidos de derrame, u otras muestras de órganos internos.

d) con tinta china y Giemsa las muestras de LCR.

5. Aislamiento

Cada muestra se inoculó en tubos con agar glucosado de sabouraud, mycocol y placa de agar sangre. Su incubación se hizo a temperatura ambiente y a 37<sup>o</sup>C. Los tubos se observaron

cada dos días, hasta por quince días.

#### 6. Identificación de los Cultivos

Cuando se observaron colonias de aspecto de levaduras se subcultivaron a placa de agar de sabouraud para obtener cultivos puros.

Todas las cepas se inocularon en agar harina de maíz para ver si había producción de micelio y de clamidosporas; además se inoculó en las cúpulas del sistema API 20 C., para estudiar sus patrones de asimilación de azúcares.

#### Sistema API 20 C

Teniendo las levaduras en cultivo puro en medio de sabouraud dextrosado, de 48 a 72 horas de crecimiento se procedió a realizar la técnica del API 20 C.

Las ampollas con medio basal fueron retiradas del refrigerador para que adquirieran temperatura ambiente al momento de ser utilizadas. Luego se pusieron a flotar en un recipiente con suficiente cantidad de agua que luego se llevó a ebullición.

Las ampollas se dejaron en el agua hirviendo 5 minutos después que el medio se fundió para conseguir una completa licuefacción.

### Preparación de las tiras

Se registró el número correlativo de la muestra sobre la bandeja; se colocaron 10 ml. de agua destilada estéril dentro de la bandeja para proveer una atmósfera húmeda durante la incubación. Se removieron las tiras API del sobre sellado y se colocaron en una de las bandejas de incubación.

### Preparación de la suspensión de levaduras

Se abrió la ampolla proporcionada para ese fin por la parte superior de la cubierta aplicando presión con el pulgar a la base del lado aplastando el tapón plástico. Del cultivo puro se aplicó una o varias colonias aisladas con una aguja estéril, y se inoculó el medio base. Se mezcló uniformemente para obtener turbidez comparable con la tarjeta API wickerham (incluida en el apéndice). La densidad debe ser tal que las tiras de tinta china de la tarjeta membretada aparezcan claramente distinguibles. En muchos casos esta densidad es obtenida tomando una sola colonia menor de 2 mm. de diámetro.

### Inoculación de la tira

Las tiras de API 20 C contienen 20 cúpulas.

Con una pipeta pasteur estéril se inoculó cada una de las cúpulas colocando la punta de la pipeta al lado de la pared de la cúpula

evitando la formación de burbujas. Se llenó completamente la cúpula con la suspensión, todas las cúpulas deben quedar ligeramente -- convexas, lo cual se logra poniendo una gota sobre el punto de -- nivel; ésto facilita la lectura de la prueba. Después de la inoculación se colocó la tapadera plástica sobre la bandeja y se incubó por 72 horas a temperatura ambiente, colocando en el sitio de incubación un depósito con agua para mantener la humedad.

#### Lectura de las tiras

Las reacciones fueron leídas después de 24, 48 y 72 horas de incubación, logrando resultados más confiables al cabo de las 72 horas. Las reacciones son anotadas sobre la hoja de trabajo.

En la tira tenemos un control negativo de las reacciones de asimilación y un control positivo que es la cúpula de glucosa, la cuál sirve como control de crecimiento.

Se considera que la reacción es positiva cuando se observa crecimiento, evidenciado por la presencia de microcolonias suspendidas en el medio semisólido.

La reacción es negativa si no hay ningún cambio en el medio.

Luego que todas las reacciones han sido leídas sobre la tarjeta de trabajo (ver apéndice), la clasificación de los organismos se hará con la ayuda de la tabla que muestra las características -

bioquímicas de las diferentes especies de levaduras (ver apéndice). En algunos casos la interpretación de los resultados requiere - la ayuda de otras características tales como la morfología microsocópica, la producción de pseudohifas, hifas verdaderas, de cla--midosporas y la producción de urea.

## R E S U L T A D O S

La distribución de pacientes estudiados se presenta en el Cuadro I. El 88.5% de las muestras analizadas fueron obtenidas de pacientes ambulatorios y hospitalizados en los diferentes -- servicios del Hospital General del Instituto Salvadoreño del - Seguro Social. La mayoría de los pacientes ambulatorios eran de la Consulta de la especialidad de Dermatología del Hospital Ro-sales.

Dadas las características de los Hospitales en los que se tomaron las muestras, la población estudiada estuvo formada en su mayoría por personas adultas (Cuadro II). Las edades de los pacientes con cultivos con levaduras estuvieron entre los 24 y los 93 años pero predominaron los pacientes de 21 a 30 años (35.6%) continuándole en frecuencia la de 31 a 40 años (24.9%) 6 pacien-tes (1.2%) fueron recién nacidos.

Pertenecieron al sexo femenino 337 (67%) de los pacientes y 166 (33%) al masculino, dándonos una relación de 2:1 (ver - cuadro III).

En cuanto a las clases de muestras (Cuadro IV) predominaron las queratinizadas (38.8%), dentro de las cuales están incluidas: muestras de uñas, piel y úlceras.



Siguieron en frecuencia las muestras de secreciones de mucosas (23.7%). También se encontraron positivas muestras de orina en un 15.9% y esputo 12.3%. En menor porcentaje se encontraron con levaduras las muestras que se clasificaron como de órganos internos (2.9%) y de otras localizaciones (oído, catéter, heces, sonda, etc)

El examen directo se realizó en 423 muestras y fue positivo en 255 (53.2%) No se incluyeron las 80 muestras de orina, ya que a estas no se les verificó examen directo. Estos resultados se presentan en el Cuadro V en el que se puede notar que fueron positivos al examen directo 48 (77.4%) de los 62 esputos examinados, 66 (55.4%) de las 119 muestras de secreción de mucosas; 93 (47.6%) de las 195 muestras queratinizadas, 6 (40%) de los 15 líquidos de órganos internos y 12 (37.5%) de las 32 muestras restantes.

En el Cuadro VI se presentan los resultados del examen directo con más detalles. Todas las muestras de mucosa oral y líquido peritoneal positivas al cultivo fueron positivas también al examen directo. En cambio podemos observar que de las 89 muestras de secreción vaginal fueron positivas solo 52 o sea 58.4%, de uñas (91 muestras) la positividad fue de 53.8% y de piel (95 muestras) el directo fue positivo en 45.2%.

Las cepas aisladas de las 503 muestras fueron todas estudiadas por la técnica API 20 C (Cuadro VII). Con ese procedimiento se logró clasificar esas cepas en 11 géneros y 22 diferentes especies. Candida fue el género predominante 461 (91.6%); siendo Candida albicans la especie aislada en un porcentaje más elevado 228 (45.3%).

Con porcentaje bastante altos encontramos también a Candida parapsilosis 79 cepas (15.7%), Candida glabrata 60 cepas (11.9%), Candida tropicalis 59 (11.7%) y Candida guilliermondii 17 (3.4%). En menor porcentaje se clasificaron especies de levaduras de los géneros: Rhodotorula 16 (3.2%), Cryptococcus 11 (2.2%), Trichosporon 3 (0.6%), Saccharomyces 3 (0.6%), Geotrichum 2 (0.4%), Torulopsis 2 (0.4%), (Ver Cuadro VII). Algunas cepas no se pudieron clasificar adecuadamente pues no crecieron en ninguna de las cúpulas de API 20 C a pesar de que habían crecido en el medio de Sabouraud.

En el Cuadro VIII presentamos el detalle de las especies aisladas de las 195 muestras queratinizadas estudiadas. Candida albicans fue siempre la especie predominante 64 (32.8%), luego siguió Candida parapsilosis 56 (28.7%); también Candida tropicalis y Candida guilliermondii fueron aisladas en porcentajes considerables. Analizando con más minuciosidad estos resultados (Cuadro IX) observamos que el patrón de cepas aisladas de uñas varió ligeramente habiéndose aislado con mayor frecuencia Candida parapsilosis

35 (38.5%), siguiendo Candida albicans 16 (17.6%) en tercer lugar Candida guilliermondii 13 (14.3%) y luego Candida tropicalis 8 (8.8%).

En la piel la especie aislada con mayor frecuencia fue --- Candida albicans 45 (47.3%) siguiendo Candida parapsilosis 20 (21.0%) y luego Candida tropicalis 7 (7.3%). Llama la atención el aislamiento de Rhodotorula rubra en 6 casos (6.3%).

Cabe mencionar que en las muestras de úlceras fue Candida albicans también la especie de mayor frecuencia, 3 cepas (33.3%) siguiéndole Candida tropicalis, 2 cepas (22.3%).

De las muestras de secreciones vaginales Candida albicans fue la especie cultivada de mayor número de casos (64%) siguiéndole Candida glabrata 18 (20.2%) y luego Candida parapsilosis 7 (7.9%).

En secreciones faríngeas, uretrales y orales también Candida albicans fue la especie más frecuentemente aislada, Candida --- tropicalis fue segunda en frecuencia y a continuación encontramos Candida glabrata. De las 2 muestras de secreción ocular se aisló Rhodotorula glutinis.

De las 3 muestras de secreción bronquial sólo se aisló -- Candida tropicalis.

En las muestras de orina Candida glabrata fue la especie que predominó 37 (46.3%) en segundo lugar Candida albicans 21 (26.3%), y luego Candida tropicalis 12 (15.0%).

En esputo la especie predominante fue Candida albicans 48 (77.4%) encontrándose después Candida tropicalis 9 (14.6%).

De las lesiones de órganos internos se aisló Candida albicans en la mayor parte de las muestras excepto en líquido peritoneal y cefalorraquídeo en los que la especie aislada fue Candida lusitaniae en el primero y Rhodotorula glutinis en el segundo. De sangre se aisló además de Candida albicans, Candida tropicalis y Candida parapsilosis.

En las muestras clasificadas como otras, persistió Candida albicans como la especie más frecuentemente aislada, exceptuando a las 14 muestras de secreciones óticas de 12 (85.7%) de las cuales se aisló Candida parapsilosis y en las otras 2 se obtuvo Candida tropicalis.

Puede observarse que en las muestras provenientes de catéter, sonda vesical y heridas operatorias fue Candida albicans la especie predominante (Ver Cuadro IX).

Las 503 levaduras aisladas fueron estudiadas por el método API

20 C. El análisis de los resultados en cuanto a la prueba de urea mostró que casi todas las levaduras del género Candida no hidrolizaron la urea, con la excepción de 14.3% de las cepas de Candida lusitanae, 50% de la Candida krusei y 100% de la Candida humicola (Ver Cuadro X).

Los porcentajes de positividad de la urea de las cepas de Rhodotorula varió del 66.7% al 100% y de Cryptococcus de 75 al 85.7% Trichosporon beigelii fue positivo en 33.3% de casos y Sporobolomyces salmonicolor en 100%.

Todas las cepas de Saccharomyces, Geotrichum, Torulasporea rosei, Prototheca stagnora, Hanseniaspora guilliermondii y Torulopsis candida no hidrolizaron urea.

En la prueba de Agar Harina de Mafz sólo Candida albicans formó clamidosporas habiendo presentado esas estructuras el 100% de las cepas.

No se anotó ningún otro parámetro morfológico con esta prueba.

C U A D R O I

DISTRIBUCION DE PACIENTES DE ACUERDO A LA  
INSTITUCION DONDE SE TOMARON LAS MUESTRAS

INSTITUCION	No. CASOS	%
Hospital Gral. del Inst. Salvadoreño del Seguro Social	445	88.5
Hospital Rosales	58	11.5
T O T A L	503	100.0

C U A D R O    I I

DISTRIBUCION DE PACIENTES DE  
ACUERDO A EDAD

E D A D	No. DE CASOS	%
24 - 48 horas	6	1.2
11 - 20 años	6	1.2
21 - 30 años	179	35.6
31 - 40 años	125	24.9
41 - 50 años	75	14.9
51 - 60 años	61	12.1
61 - 70 años	21	4.2
71 - 80 años	23	4.5
81 - 90 años	6	1.2
91 - 93 años	1	0.2
T O T A L	503	100.0

C U A D R O     I I I

DISTRIBUCION DE PACIENTES SEGUN SEXO

	<u>No. DE PACIENTES</u>	<u>%</u>
FEMENINOS	337	67
MASCULINOS	166	33
T O T A L	503	100



C U A D R O      I V

CLASES DE MUESTRAS DE LAS QUE SE AISLARON LEVADURAS

---

MUESTRAS QUERATINIZADAS .....	195	(38.8%)
PIEL	95	
UÑAS	91	
ULCERAS	9	
ORINA .....	80	(15.9%)
ESPUTO .....	62	(12.3%)
SECRECIONES DE MUCOSAS .....	119	(23.7%)
VAGINAL	89	
FARINGEO	19	
URETRAL	4	
BRONQUIAL	3	
OCULAR	2	
BUCAL	2	
LESIONES DE ORGANOS INTERNOS .....	15	( 2.9%)
SANGRE	5	
LIQUIDO ABDOMINAL	4	
LIQUIDO AMNIOTICO	2	
LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO	1	
CONTENIDO GASTRICO	1	
LIQUIDO PERITONEAL	1	
SEMEN	1	
OTRAS .....	32	( 6.4%)
OIDO	14	
CATETER	8	
HECES	5	
HERIDA OPERATORIA	3	
SONDA VESICAL	2	

---

C U A D R O    V

PORCENTAJE DE POSITIVIDAD DEL EXAMEN DIRECTO  
SEGUN LA CLASE DE MUESTRA

---

CLASE DE MUESTRA	CULTIVO	DIRECTO	%
ESPUTO	62	48	77.4
SECRECIONES DE MUCOSAS	119	66	55.4
MUESTRAS QUERATINIZADAS	195	93	47.6
LIQUIDOS DE ORGANOS INTERNOS	15	6	40.0
OTRAS	32	12	37.5
T O T A L	423	225	53.2

---

Orina no se verificó el directo

C U A D R O      V I

PORCENTAJE DE POSITIVIDAD DEL EXAMEN DIRECTO  
EN TODAS LAS CLASES DE MUESTRAS

CLASES DE MUESTRAS	CULTIVO	DIRECTO	%
MUCOSA ORAL	2	2	100.0
LIQUIDO PERITONEAL	1	1	100.0
ESPUTO	62	48	77.4
SECRECION ABDOMINAL	4	3	75.0
HERIDAS OPERATORIAS	3	2	66.7
HECES	5	3	60.0
SECRECION VAGINAL	89	52	58.4
UÑAS	91	49	53.8
SECRECION FARINGEA	19	10	52.6
LIQUIDO AMNIOTICO	2	1	50.0
SONDA VESICAL	2	1	50.0
PIEL	95	43	45.2
SECRECION BRONQUIAL	3	1	33.3
SECRECION OIDO	14	4	28.6
CATETER	8	2	25.0
SECRECION URETRAL	4	1	25.0
SANGRE	5	1	20.0
ULCERAS	9	1	11.1
SECRECION OJOS	2	0	0.0
SEMEN	1	0	0.0
LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO	1	0	0.0
CONTENIDO GASTRICO	1	0	0.0

C U A D R O    V I I

RESULTADOS DE INVESTIGACION MICOLOGICA. IDENTIFICACION  
ESPECIFICA DE LEVADURAS

	No. DE LEVADURAS	%
1. <u>Candida albicans</u>	228	45.3
2. <u>Candida parapsilosis</u>	79	15.7
3. <u>Candida glabrata</u>	60	11.9
4. <u>Candida tropicalis</u>	59	11.7
5. <u>Candida guilliermondii</u>	17	3.4
6. <u>Candida lusitaniae</u>	7	1.4
7. <u>Candida krusei</u>	6	1.2
8. <u>Candida humicola</u>	3	0.6
9. <u>Candida lipolytica</u>	2	0.4
10. <u>Rhodotorula rubra</u>	8	1.6
11. <u>Rhodotorula glutinis</u>	6	1.2
12. <u>Rhodotorula pilimanae</u>	2	0.4
13. <u>Cryptococcus laurentii</u>	7	1.4
14. <u>Cryptococcus albidus</u>	4	0.8
15. <u>Trichosporon beigeli</u>	3	0.6
16. <u>Saccharomyces cerevisiae</u>	3	0.6
17. <u>Geotrichum sp</u>	2	0.4
18. <u>Torulasporea rosei</u>	2	0.4
19. <u>Prototheca stagnora</u>	1	0.2
20. <u>Hanseniaspora guilliermondii</u>	1	0.2
21. <u>Torulopsis candida</u>	2	0.4
22. <u>Sporobolomyces salmonicolor</u>	1	0.2

C U A D R O VIIILEVADURAS AISLADAS DE 503 MUESTRAS ESTUDIADAS

	No. DE LEVADURAS	%
A. <u>MUESTRAS QUERATINIZADAS</u>		
<u>Candida albicans</u>	64	32.8
<u>Candida parapsilosis</u>	56	28.7
<u>Candida tropicalis</u>	17	8.7
<u>Candida guilliermondii</u>	16	8.2
<u>Rhodotorula rubra</u>	8	4.1
<u>Candida lusitaniae</u>	4	2.1
<u>Cryptococcus albidus</u>	4	2.1
<u>Cryptococcus laurentii</u>	4	2.1
<u>Candida glabrata</u>	3	1.6
<u>Rhodotorula glutinis</u>	3	1.6
<u>Rhodotorula pilimanae</u>	2	1.0
<u>Candida krusei</u>	2	1.0
<u>Trichosporon rosei</u>	2	1.0
<u>Trichosporon beigellii</u>	2	1.0
<u>Torulopsis candida</u>	2	1.0
<u>Candida lipolytica</u>	1	0.5
<u>Saccharomyces cerevisiae</u>	1	0.5
<u>Geotrichum sp.</u>	1	0.5
<u>Prototheca stagnora</u>	1	0.5
<u>Hanseniaspora guilliermondii</u>	1	0.5
<u>Candida humicola</u>	1	0.5
T O T A L	195	100.0

## Cont.Cuadro VIII

	No. DE LEVADURAS	%
<u>B. SECRECIONES DE MUCOSAS</u>		
<u>Candida albicans</u>	77	64.7
<u>Candida glabrata</u>	20	16.8
<u>Candida tropicalis</u>	10	8.4
<u>Candida parapsilosis</u>	7	5.9
<u>Candida krusei</u>	2	1.7
<u>Rhodotorula glutinis</u>	2	1.7
<u>Candida humicola</u>	1	0.8
T O T A L	119	100.0
<u>ORINA</u>		
<u>Candida glabrata</u>	37	46.3
<u>Candida albicans</u>	21	26.3
<u>Candida tropicalis</u>	12	15.0
<u>Candida parapsilosis</u>	3	3.8
<u>Candida lusitaniae</u>	2	2.5
<u>Cryptococcus laurentii</u>	2	2.5
<u>Trichosporon beigeli</u>	1	1.2
<u>Saccharomyces cerevisiae</u>	1	1.2
<u>Candida krusei</u>	1	1.2
T O T A L	80	100.0

Cont. Cuadro VIII

	No. DE LEVADURAS	%
<u>E S P U T O</u>		
<u>Candida albicans</u>	48	77.4
<u>Candida tropicalis</u>	9	14.6
<u>Candida humicola</u>	1	1.6
<u>Sporobolomyces salmonicolor</u>	1	1.6
<u>Candida lipolytica</u>	1	1.6
<u>Candida guilliermondii</u>	1	1.6
<u>Saccharomyces cerevisiae</u>	1	1.6
T O T A L	62	100.0
<u>LESIONES DE ORGANOS INTERNOS</u>		
<u>Candida albicans</u>	9	60.0
<u>Candida tropicalis</u>	3	20.0
<u>Candida parapsilosis</u>	1	6.7
<u>Candida lusitaniae</u>	1	6.7
<u>Rhodotorula glutinis</u>	1	6.7
T O T A L	15	100.0
<u>O T R A S</u>		
<u>Candida parapsilosis</u>	12	37.5
<u>Candida albicans</u>	9	28.2
<u>Candida tropicalis</u>	8	25.0
<u>Candida krusei</u>	1	3.1
<u>Geotrichum sp.</u>	1	3.1
<u>Cryptococcus laurentii</u>	1	3.1

C U A D R O IX

DETALLE DE LOS RESULTADOS DEL CULTIVO EN TODOS  
LOS TIPOS DE MUESTRA

	No. DE LEVADURAS	%
A. UÑAS, PIEL Y ULCERAS		
<u>U Ñ A S</u>		
<u>Candida parapsilosis</u>	35	38.5
<u>Candida albicans</u>	16	17.6
<u>Candida guilliermondii</u>	13	14.3
<u>Candida tropicalis</u>	8	8.8
<u>Candida lusitaniae</u>	3	3.2
<u>Candida glabrata</u>	2	2.2
<u>Candida albidus</u>	2	2.2
<u>Rhdotorula rubra</u>	2	2.2
<u>Rhodotorula glutinis</u>	2	2.2
<u>Cryptococcus laurentii</u>	2	2.2
<u>Torulaspora rosei</u>	2	2.2
<u>Prototheca stagnora</u>	1	1.1
<u>Trichosporon beigelli</u>	1	1.1
<u>Candida humicola</u>	1	1.1
<u>Torulopsis candida</u>	1	1.1
T O T A L	91	100.0



Cont. Cuadro IX

---

	No. DE LEVADURAS	%
<hr/>		
B. <u>SECRECIONES DE MUCOSAS</u>		
<u>SECRECION VAGINAL</u>		
<u>Candida albicans</u>	57	64.0
<u>Candida glabrata</u>	18	20.2
<u>Candida parapsilosis</u>	7	7.9
<u>Candida tropicalis</u>	4	4.5
<u>Candida krusei</u>	2	2.3
<u>Candida humicola</u>	1	1.1
T O T A L	89	100.0
<u>SECRECION FARINGEA</u>		
<u>Candida albicans</u>	16	84.2
<u>Candida tropicalis</u>	2	10.5
<u>Candida glabrata</u>	1	5.3
T O T A L	19	100.0
<u>SECRECION URETRAL</u>		
<u>Candida albicans</u>	2	50.0
<u>Candida tropicalis</u>	1	25.0
<u>Candida glabrata</u>	1	25.0
T O T A L	4	100.0
<u>SECRECION OCULAR</u>		
<u>Rhodotorula glutinis</u>	2	100.0
T O T A L	2	100.0
<u>SECRECION ORAL</u>		
<u>Candida albicans</u>	2	100.0

---

Cont. Cuadro IX

	No. DE LEVADURAS	%
<u>SECRECION BRONQUIAL</u>		
<u>Candida tropicalis</u>	3	100.0
T O T A L	3	100.0
 <u>C. O R I N A</u>		
<u>Candida glabrata</u>	37	46.3
<u>Candida albicans</u>	21	26.3
<u>Candida tropicalis</u>	12	15.0
<u>Candida parapsilosis</u>	3	3.8
<u>Candida lusitaniae</u>	2	2.5
<u>Cryptococcus laurentii</u>	2	2.5
<u>Trichosporon beigeli</u>	1	1.2
<u>Saccharomyces cerevisiae</u>	1	1.2
<u>Candida krusei</u>	1	1.2
T O T A L	80	100.0
 <u>D. E S P U T O</u>		
<u>Candida albicans</u>	48	77.4
<u>Candida tropicalis</u>	9	14.6
<u>Candida humicola</u>	1	1.6
<u>Sporobolomyces salmonicolor</u>	1	1.6
<u>Candida lipolytica</u>	1	1.6
<u>Candida guillermondii</u>	1	1.6
<u>Saccharomyces cerevisiae</u>	1	1.6
T O T A L	62	100.0

Cont. Cuadro IX

	No. DE LEVADURAS	%
<u>E. LESIONES DE ORGANOS INTERNOS</u>		
<u>SANGRE</u>		
<u>Candida albicans</u>	2	40.0
<u>Candida tropicalis</u>	2	40.0
<u>Candida parapsilosis</u>	1	20.0
SUB TOTAL	5	100.0
<u>SEMEN</u>		
<u>Candida albicans</u>	1	100.0
SUB TOTAL	1	100.0
<u>LIQUIDO AMNIOTICO</u>		
<u>Candida albicans</u>	2	100.0
SUB TOTAL	2	100.0
<u>C. GASTRICO</u>		
<u>Candida albicans</u>	1	100.0
SUB TOTAL	1	100.0
<u>LIQUIDO ABDOMINAL</u>		
<u>Candida albicans</u>	3	75.0
<u>Candida tropicalis</u>	1	25.0
SUB TOTAL	4	100.0
<u>LIQUIDO PERITONEAL</u>		
<u>Candida lusitaniae</u>	1	100.0
SUB TOTAL	1	100.0
<u>LIQUIDO CEFALORRAQUIDEO</u>		
<u>Rhodotorula glutinis</u>	1	100.0
SUB TOTAL	1	100.0

Cont. Cuadro IX

	No. DE LEVADURAS	%
<u>F. O T R A S</u>		
<u>HECES</u>		
<u>Candida albicans</u>	1	20
<u>Candida tropicalis</u>	1	20
<u>Candida krusei</u>	1	20
<u>Cryptococcus laurentii</u>	1	20
<u>Geotrichum species</u>	1	20
SUB TOTAL	5	100.0
 <u>CATETER</u>		
<u>Candida albicans</u>	4	50
<u>Candida tropicalis</u>	4	50
SUB TOTAL	8	100.0
 <u>SONDA VESICAL</u>		
<u>Candida albicans</u>	1	50
<u>Candida tropicalis</u>	1	50
SUB TOTAL	2	100.0
 <u>HERIDA OPERATORIA</u>		
<u>Candida albicans</u>	3	100
SUB TOTAL	3	100.0
 <u>SECRECION OTICA</u>		
<u>Candida parapsilosis</u>	12	85.7
<u>Candida tropicalis</u>	2	14.3
SUB TOTAL	14	100.0
T O T A L	32	100.0

## Cont. Cuadro IX.

	No. DE LEVADURAS	%
<u>P I E L</u>		
<u>Candida albicans</u>	45	47.3
<u>Candida parapsilosis</u>	20	21.0
<u>Candida tropicalis</u>	7	7.3
<u>Rhodotorula rubra</u>	6	6.3
<u>Candida guilliermondii</u>	2	2.1
<u>Rhodotorula pilimanae</u>	2	2.1
<u>Cryptococcus albidus</u>	2	2.1
<u>Cryptococcus laurentii</u>	2	2.1
<u>Candida krusei</u>	1	1.1
<u>Candida lipolytica</u>	1	1.1
<u>Rhodotorula glutinis</u>	1	1.1
<u>Trichosporon beigeli</u>	1	1.1
<u>Hanseniaspora guilliermondii</u>	1	1.1
<u>Geotrichum species</u>	1	1.1
<u>Saccharomyces cerevisiae</u>	1	1.1
<u>Candida lusitaniae</u>	1	1.1
<u>Torulopsis candida</u>	1	1.1
T O T A L	95	100.0
<u>U L C E R A</u>		
<u>Candida albicans</u>	3	33.3
<u>Candida tropicalis</u>	2	22.3
<u>Candida guilliermondii</u>	1	11.1
<u>Candida parapsilosis</u>	1	11.1
<u>Candida krusei</u>	1	11.1
<u>Candida glabrata</u>	1	11.1
T O T A L	9	100.0

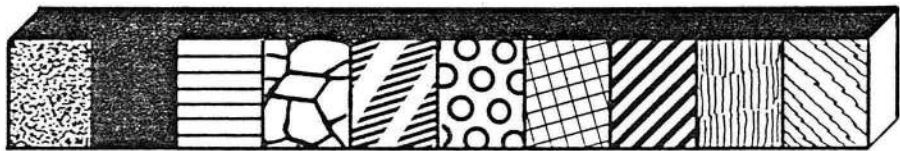
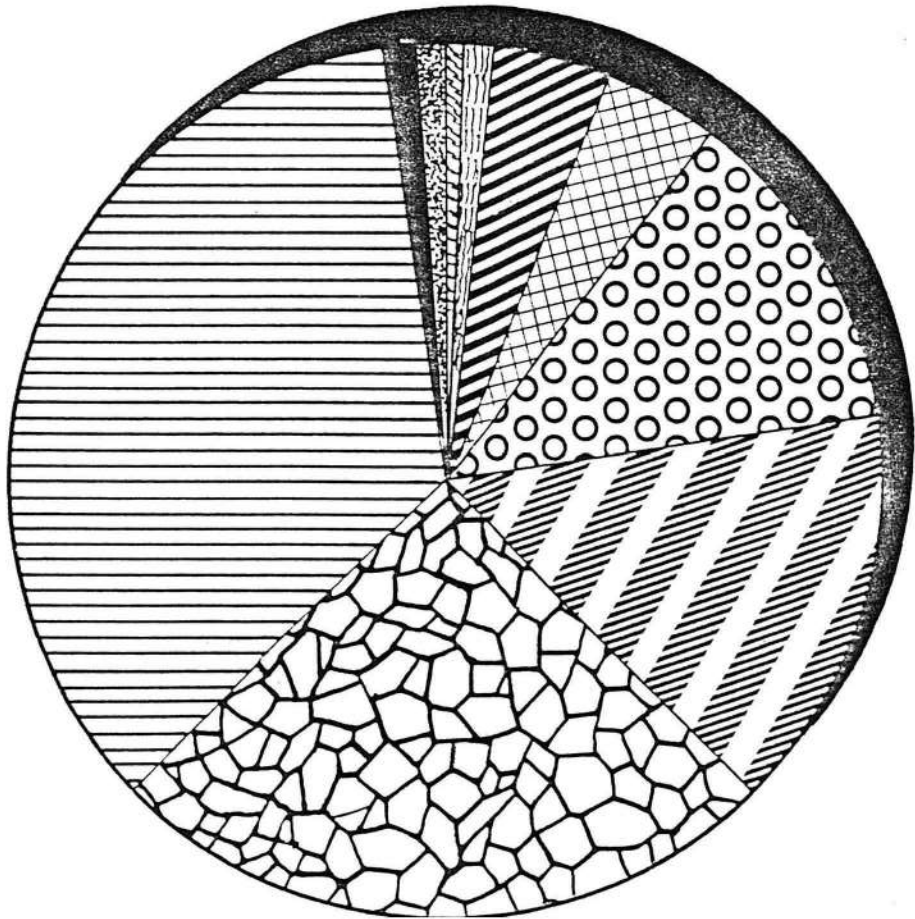
C U A D R O X

ANALISIS DE UREA Y AGAR HARINA DE MAIZ DE 503

LEVADURAS IDENTIFICADAS POR API 20 C

E S P E C I E S	API	U R E A				A H M			
		+		-		+		-	
		No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
<u>Candida albicans</u>	228	-	-	228	100	228	100	-	-
<u>Candida parapsilosis</u>	79	-	-	79	100	-	-	79	100
<u>Candida tropicalis</u>	59	-	-	59	100	-	-	59	100
<u>Candida glabrata</u>	60	-	-	60	100	-	-	60	100
<u>Candida guilliermondii</u>	17	-	-	17	100	-	-	17	100
<u>Candida lusitane</u>	7	1	14.3	6	85.7	-	-	7	100
<u>Candida krusei</u>	6	3	50	3	50	-	-	6	100
<u>Candida humicola</u>	3	3	100	-	-	-	-	3	100
<u>Candida lipolytica</u>	2	-	-	2	100	-	-	2	100
<u>Cladobotryula rubra</u>	8	6	75	2	25	-	-	8	100
<u>Cladobotryula glutinis</u>	6	4	66.7	2	33.3	-	-	6	100
<u>Cladobotryula pilimanae</u>	2	2	100	-	-	-	-	2	100
<u>Cyptococcus laurentii</u>	7	6	85.7	1	14.3	-	-	7	100
<u>Cyptococcus albidus</u>	4	3	75	1	25	-	-	4	100
<u>Debaryomyces hansenii</u>	3	1	33.3	2	66.7	-	-	3	100
<u>Debaryomyces cerevisiae</u>	3	-	-	3	100	-	-	3	100
<u>Debaryomyces sp.</u>	2	-	-	2	100	-	-	2	100
<u>Debaryomyces rosei</u>	2	-	-	2	100	-	-	2	100
<u>Debaryomyces stagnora</u>	1	-	-	1	100	-	-	1	100
<u>Debaryomyces guilliermondii</u>	1	-	-	1	100	-	-	1	100
<u>Debaryomyces candida</u>	2	-	-	2	100	-	-	2	100
<u>Debaryomyces salmonicolor</u>	1	1	100	-	-	-	-	1	100

# DISTRIBUCION DE 503 PACIENTES DE ACUERDO A EDAD



E D A D  
No. DE CASOS %

RECIENTE NACIDOS  
(24 A 48 HORAS)

11-20 AÑOS

21-30 AÑOS

31-40 AÑOS

41-50 AÑOS

51-60 AÑOS

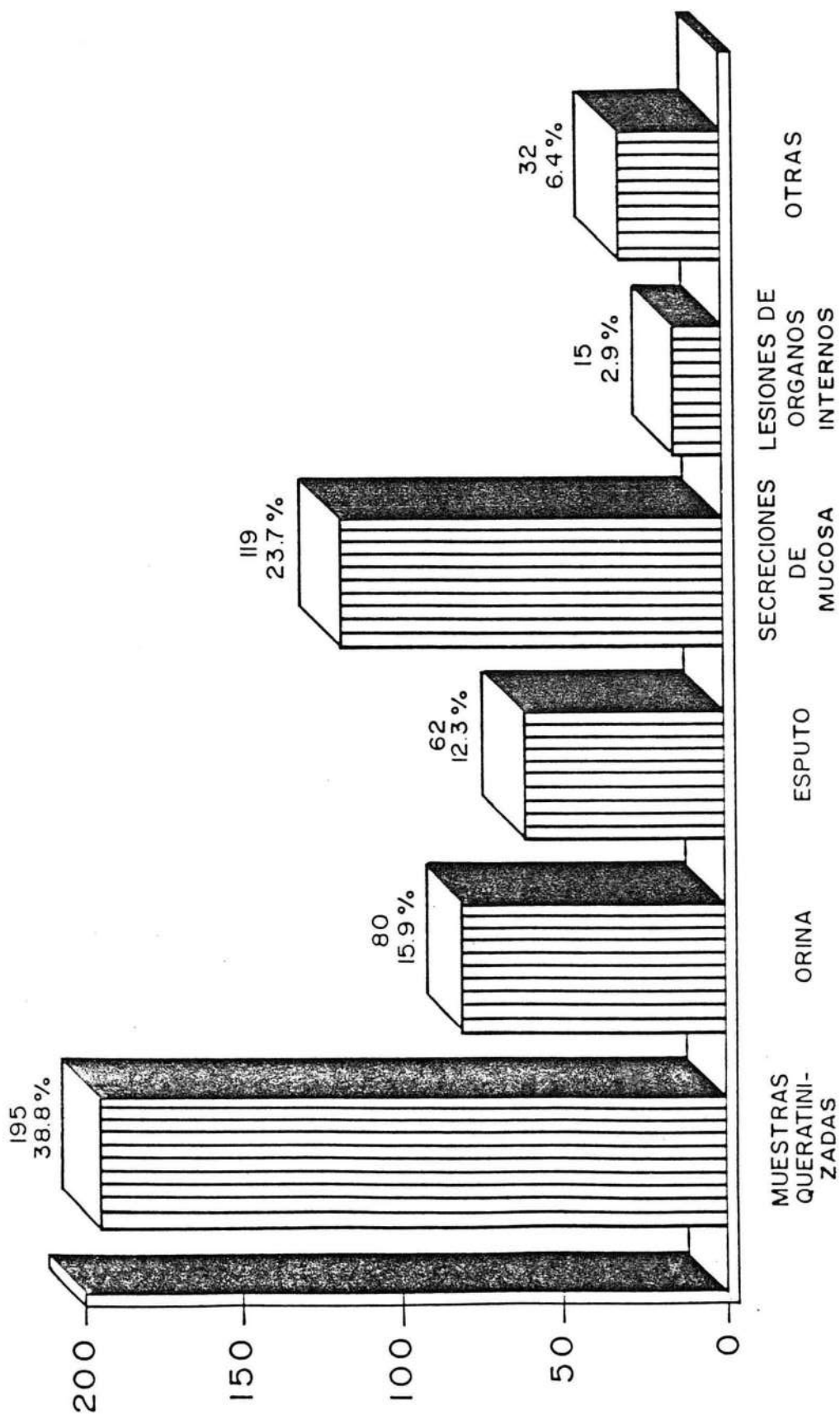
61-70 AÑOS

71-80 AÑOS

81-90 AÑOS

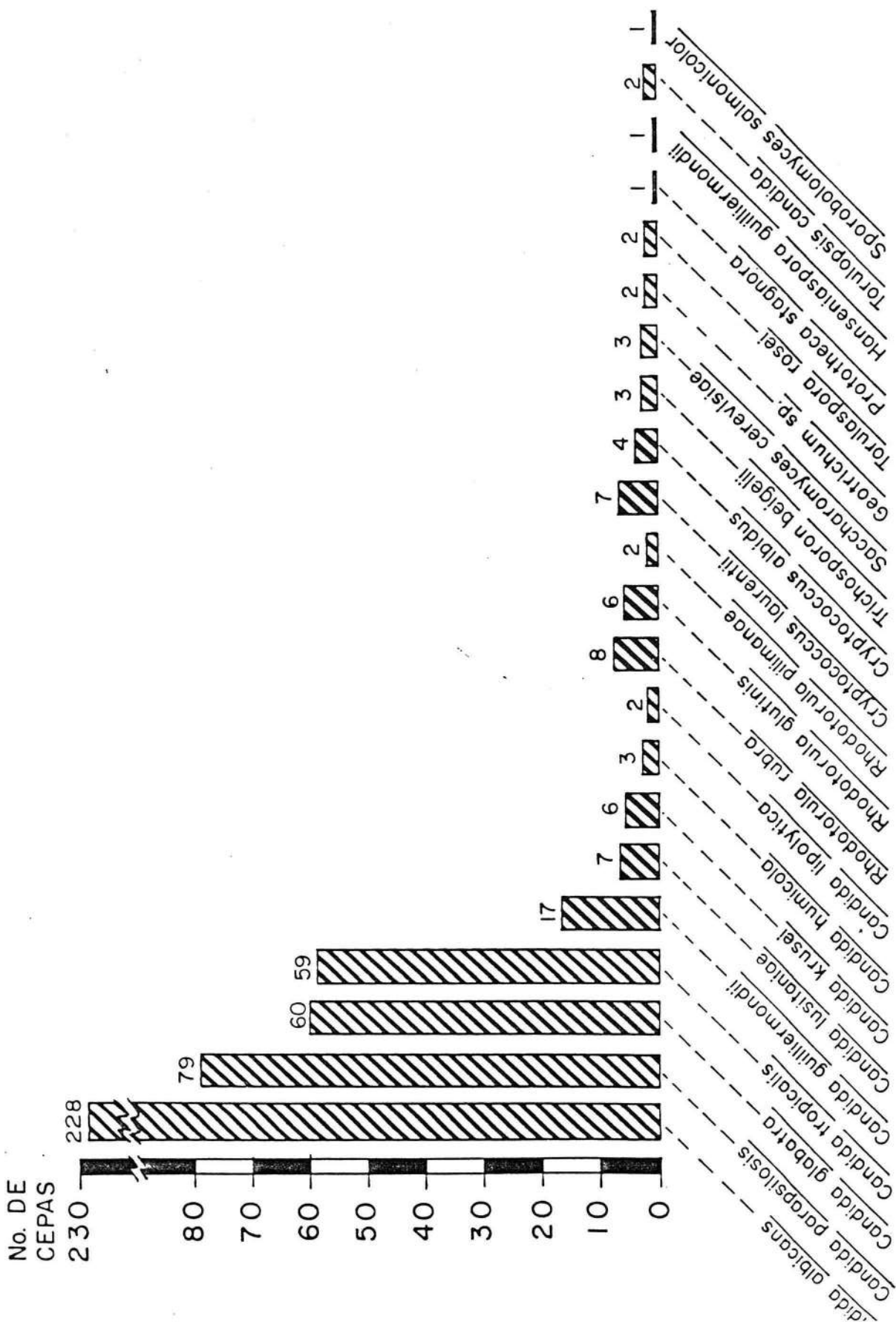
91-93 AÑOS

# CLASES DE MUESTRAS DE LAS QUE SE AISLARON LEVADURAS

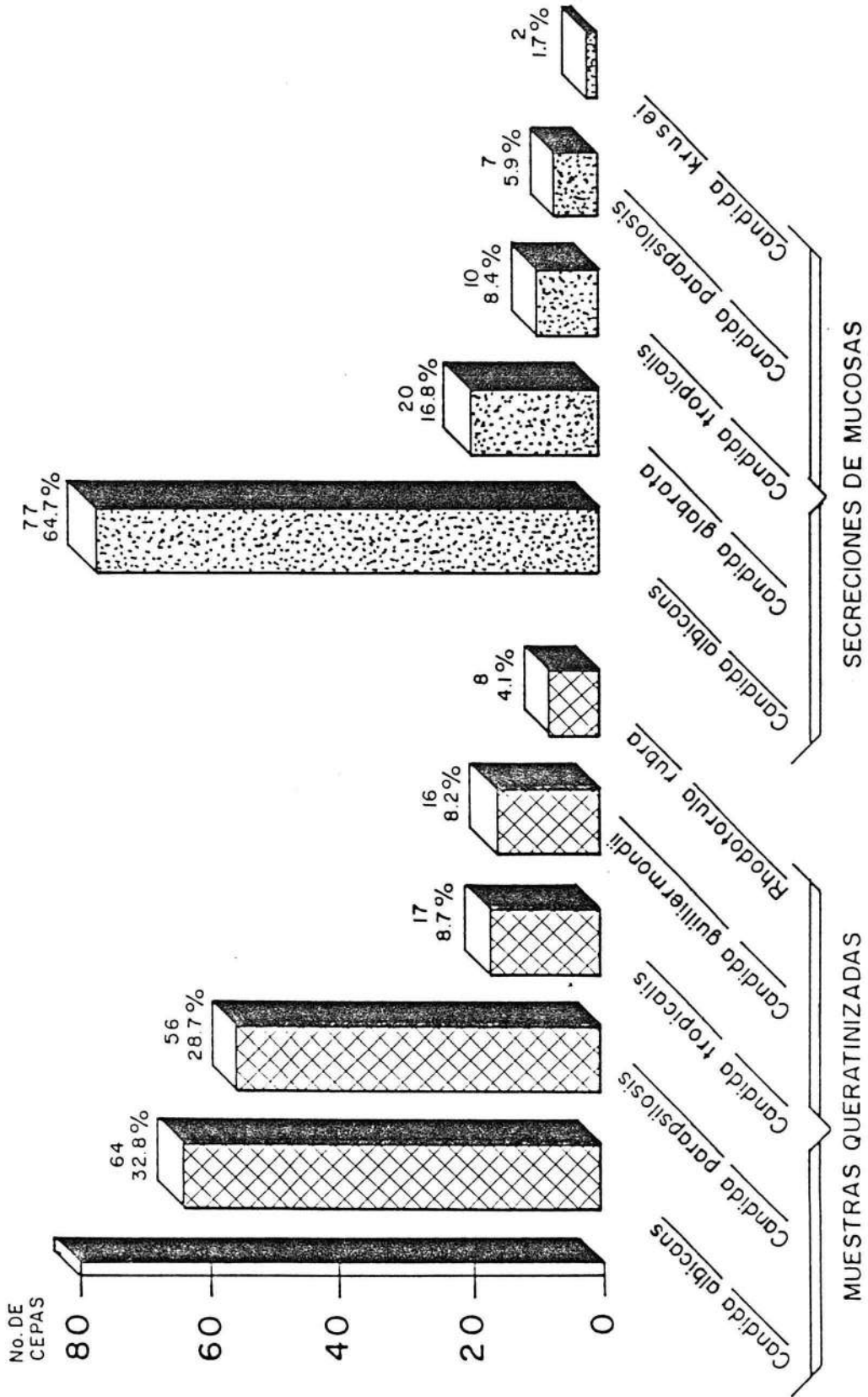




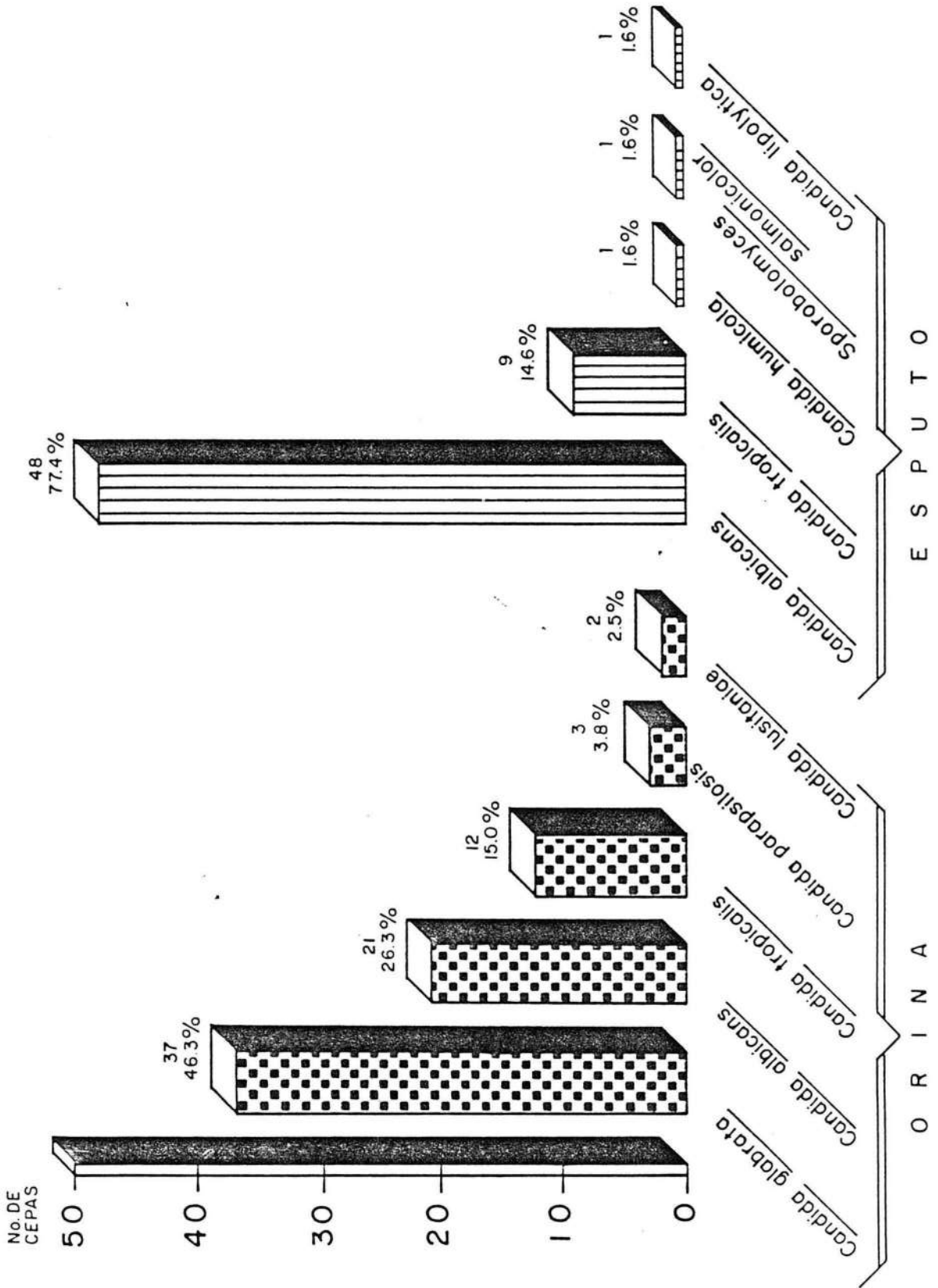
# RESULTADO DE LOS CULTIVOS EN SUS FAUNAS



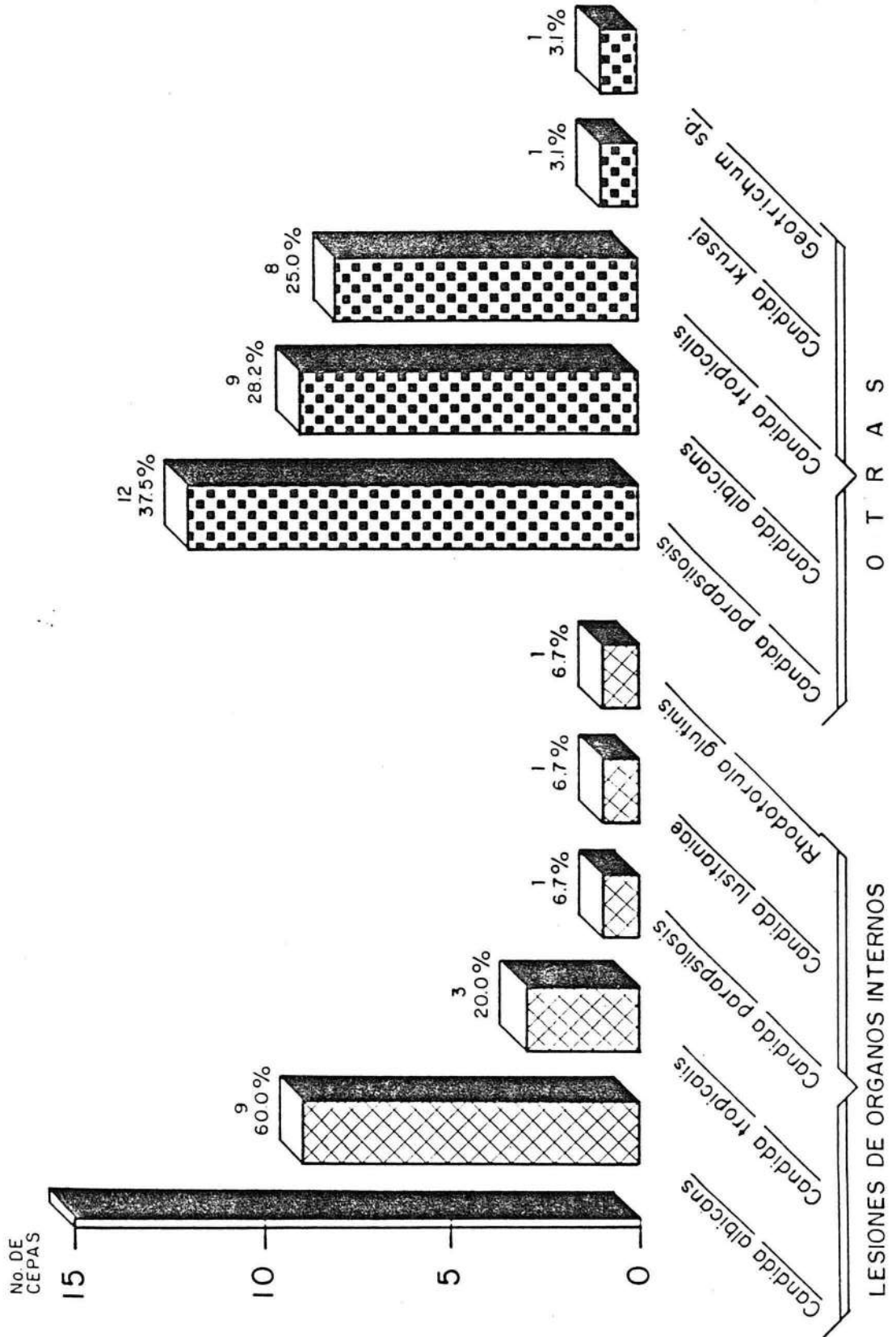
# FRECUENCIA DE LEVADURAS AISLADAS SEGUN TIPO DE MUESTRAS



# SEGUN TIPO DE MUESTRAS



# FRECUENCIA DE LEVADURAS AISLADAS SEGUN TIPO DE MUESTRAS



## D I S C U S I O N

De las 503 muestras clínicas de pacientes con cultivos de levaduras incluidos en este estudio 22 especies pertenecientes a 11 diferentes géneros se pudieron tipificar por el Método API 20 C.

Esta gran diversidad de microorganismos asociados con muestras clínicas humanas nos muestran la ubicuidad de las levaduras en el ambiente que rodea al humano y en el humano mismo, lo cual adquiere mayor importancia en el tiempo actual, en el que con los avances de la medicina y el advenimiento de enfermedades de inmunosupresión adquirida, los microorganismos antes considerados saprófitos, inofensivos contaminantes de las lesiones o secreciones, se vuelven patógenos potenciales de gran significado clínico (4, 6, 40).

Esto es de especial importancia en este estudio si consideramos que una buena parte de las muestras procedían de pacientes hospitalizados, sujetos a diversos procedimientos médicos y quirúrgicos que podrían implicar una disminución de sus defensas (4).

Las cepas fueron aisladas principalmente en pacientes de 20 a 40 años. Esto en parte puede explicarse porque casi todos fueron enfermos del Hospital General del Seguro Social, que da servicio

a un gran número de trabajadores jóvenes. Los pocos niños y ancianos incluidos en el estudio provenían del Servicio de Nursería o del Hospital Rosales.

De manera que, aunque los resultados muestran que estos aislamientos se efectuaron en su mayoría en adultos jóvenes, nada se puede concluir pues la muestra no fue representativa de todas las edades.

En este estudio los aislamientos predominaron en el sexo femenino, lo cual coincide con lo reportado en la literatura (26). A pesar de que la mayoría de micosis ocurren principalmente en individuos del sexo masculino, candidiasis es la excepción.

Los aislamientos predominaron en muestras con material queratinizado (38.8%) tales como piel y uñas. Aquí se incluyeron también los cultivos obtenidos de úlceras de la piel, aunque estos representan más bien lesiones que se extienden al tejido subcutáneo.

En secreciones vaginales y orina se obtuvo también un número alto de aislamiento (89 y 80 cepas respectivamente).

Espujo fue la otra muestra en la que se aislaron levaduras con gran frecuencia. Las otras muestras examinadas fueron positivas

esporádicamente lo cual era de esperarse ya que la candidiasis en el adulto joven inmunocompetente usualmente causa lesiones de piel y mucosas. Ocasionalmente se localiza en otras áreas anatómicas (4) como una complicación de un procedimiento que ha permitido su penetración a través de piel o mucosas, como es el caso de las candidiasis que se observan después del uso de catéteres intravenosos, en heridas operatorias; en vías urinarias, infecciones después del uso de las sondas vesicales; o en líquido -- amniótico, en casos de ruptura prematura de membranas.

Los aislamientos de L.C.R., sangre, líquido peritoneal aparentemente representan diseminación hematógena en individuos con deficiencia inmunológica, a partir de un área donde estos microorganismos se encuentran normalmente como parte de la flora normal. En este estudio sólo representaron el 2.9% de todas las muestras.

Teniendo en cuenta la diversidad de áreas donde estas levaduras fueron aisladas, viene al caso considerar su posible papel patógeno o sea el significado clínico de los aislamientos.

Cuando se aísla de sangre, L.C.R. y líquido peritoneal, que son áreas normalmente estériles y aisladas del ambiente externo y de las zonas donde Candida habita normalmente en el humano, el aislamiento es siempre significativo y se interpreta como una diseminación hematógena o iatrogénica en un individuo inmunocompro-

metido y/o sujeto a un acto quirúrgico o proceso diagnóstico, como una cateterización venosa o punción lumbar (4, 8).

En caso de aislamiento a partir de piel y mucosas la interpretación es más difícil.

Es bien conocido que Candida albicans es un habitante normal de piel y mucosa vaginal y oral (4,8,27,40) pero también que con frecuencia causa enfermedad en esas áreas cuando ciertos factores condicionan la proliferación de levaduras (4,8).

Aquí es de gran importancia el resultado del examen directo, como ayuda para evaluar el papel patógeno de las levaduras en la lesión.

El examen directo fue realizado a todas las muestras excepto a las de orina. La positividad de este procedimiento fue bastante alta en muestras de esputo (77.4%) pero sólo de 37.5% a 55% en otras, como secreciones de mucosas, muestras queratinizadas y líquidos de órganos internos (Cuadro V). Esto posiblemente se relacione con el número de levaduras presentes en la muestra. Por eso es importante cuando clínicamente se sospecha candidiasis, verificar también el cultivo, ya que en caso contrario, quedarían sin diagnosticar más de la mitad de casos.



Esto es particularmente cierto en las muestras como L.C.R., secreción conjuntival, sangre y úlceras (Cuadro VI), en las -- cuales el examen directo es extremadamente poco sensible, debido al escaso número de levaduras presente en la muestra.

El examen directo tiene mejor rendimiento en muestras como: esputo, secreción vaginal, uñas y secreción faríngea.

Debe tenerse en cuenta que cuando es positivo el examen directo contribuye mucho a la interpretación del hallazgo del laboratorio, en especial, si se observan las hifas o pseudohifas que se consideran la forma invasiva del hongo (27).

El cultivo es un método más sensible, pero no permite el aislamiento de algunos géneros con requerimientos nutricionales especiales como Malassezia. En estos casos el examen directo es suficiente para el diagnóstico.

De las 22 especies de levaduras aisladas el género Candida comprendió 91.6% de los aislamientos, predominando Candida albicans (45.3%) lo cual era de esperarse ya que esta es el principal patógeno para el humano en ese género.

También se aislaron en porcentajes significativos otras levaduras tales como Candida parapsilosis (15.7%), Candida glabrata (11.9%), Candida tropicalis (11.7%) y Candida guilliermondii (3.4%).

De las muestras queratinizadas fue de donde se aisló una mayor variedad de cepas. Prácticamente todas las especies clasificadas estuvieron representadas en este tipo de muestras (Cuadro VIII). El patrón de aislamiento mostró predominancia de -- Candida albicans (32.8%), seguida por Candida parapsilosis (28.7%) y Candida guilliermondii (8.2%). Las cepas restantes fueron aisladas en 1 ó 2 casos cada una.

Resulta interesante apreciar que en las muestras de uñas - este patrón fue ligeramente diferente, aislándose Candida parapsilosis en la gran mayoría (38.5%) y en segundo lugar Candida albicans (17.6%).

Debe tenerse en cuenta que con frecuencia los aislamientos de cepas que no son Candida albicans se consideran contaminantes y no se reportan. Tanto el médico como el laboratorista deben estar atentos a estos hallazgos y darle la importancia que tienen. Si hay dudas es conveniente repetir los cultivos para confirmar su significado clínico.

Similares observaciones se pueden hacer en referencia a los aislamientos de muestras de orina, en las cuales Candida glabrata (46.3%), fue la especie predominante. Hay que puntualizar que - estos no representan contaminaciones a partir de vagina o ano, ya que los patrones de aislamientos en esas áreas fueron diferentes, predominando en ambas Candida albicans (64 y 20% respectivamente). Candida glabrata constituyó el 20.2% de las levaduras aisladas de vagina y no fue aislada de heces. Debe hacerse notar que las muestras de heces incluidas en este estudio representan únicamente casos en los que se estaban investigando hongos específicamente.

Llama la atención que de las 62 muestras de esputo incluidas en este estudio se aisló casi exclusivamente Candida albicans (77.4%) y Candida tropicalis (14.6%).

En cambio en las muestras de secreción ótica (14) Candida parapsilosis (85.7%) y Candida tropicalis (14.3%) fueron las - únicas 2 especies aisladas.

En las muestras obtenidas de lesiones de órganos internos Candida tropicalis fue aislada en 20% de los casos. Con estas observaciones vale la pena hacer notar que otros autores ya han señalado la importancia de levaduras de especies diferentes a - Candida albicans como causa de enfermedad.

En cuanto a la metodología utilizada, la producción de clamidosporas en el cultivo en Agar Harina de Maíz fue extremadamente sensible y específica para la identificación de Candida albicans siendo esa la única especie con la que se obtuvieron resultados positivos. Además produjeron clamidosporas todas las cepas identificadas como Candida albicans por pruebas de asimilación de azúcares (Cuadro X). No se aisló ninguna cepa de Candida stellatoidea, especie que algunos consideran una variante de Candida albicans de la cual se diferencian por las pruebas de asimilación de azúcares.

En cuanto a la prueba de urea, la cual es uno de los procedimientos utilizados para diferenciar Candida albicans de otras levaduras por ser esta última urea negativa, observamos que las especies de importancia médica aisladas en este estudio fueron todas negativas, con excepción de Candida krusei, 50% de Candida krusei aisladas fueron ureasa positiva. Este hallazgo es importante porque esa especie es reportada como causa de candidiasis sistémica (4,10,28) y podría confundirse por su positividad a esa prueba con Cryptococcus neoformas u otra especie de Cryptococcus. Candida lusitaniae fue positiva en 14.3% y Candida humicola en 100%.

Los resultados de este trabajo muestran la variedad de cepas de levaduras que pueden aislarse de muestras clínicas de manera

que en el momento actual es importante que el laboratorista pueda identificarlas adecuadamente, especialmente si se trata de cepas hospitalarias ya que es preciso definir fuentes de infección. Los micrométodos simplificados como el API 20 C permiten realizar esa labor sin mayor dificultad para la mayoría de laboratorios clínicos, por lo cual recomendamos su uso, en especial en los laboratorios hospitalarios en los cuales las infecciones por levaduras pueden tener especial importancia.

A P E N D I C E

1. Solución Salina Fisiológica (0.85%)  
Cloruro de Sodio ..... 8.5 g.  
Agua destilada ..... 1000 ml.

Distribuir en tubos en cantidades de 0.5 ml. y esterilizar a una presión de 15 libras durante 15 minutos.

Se utilizó esta solución para el Examen Directo de Secreciones vaginales, colocando la secreción suspendida en cloruro de sodio 0.85 % entre lámina y laminilla para observar microscópicamente la presencia de levaduras y/o hifas.

2. Hidróxido de Potasio al 20%  
Hidróxido de Potasio ..... 200 g.  
Agua destilada ..... 1000 ml.

El material colectado (piel, uñas y otros) se coloca en una lámina porta-objeto y se le agrega 1 o 2 gotas de hidróxido de potasio al 20% , se cubre con una laminilla. Se observa estos preparados en busca de levadura y/o hifas.

3. Coloración de Gram

Reactivos

- a) Solución madre de Cristal Violeta

Cristal Violeta, colorante al 85% ..... 20 g.

Alcohol etílico de 95° ..... 100 ml.

b) Solución Madre de oxalato

Oxalato de amonio ..... 1 g.  
Agua destilada ..... 100 ml.

Solución de Trabajo: Diluir 1:4 la solución madre de cristal violeta con la solución de oxalato de Amonio y Filtrar

B. Lugol

Cristales de yodo ..... 1 g.  
Yoduro de potasio ..... 2 g.  
Agua destilada ..... 300 ml.

Triturar el yodo y el yoduro de potasio en un mortero con 5 ml. de agua hasta obtener una mezcla más o menos homogénea y agregar poco a poco el resto del agua.

C. Alcohol Acetona

Acetona ..... 20 ml.  
Alcohol etílico 95% ..... 80 ml.

D. Safranina

Safranina O ..... 2.5 g.  
Alcohol etílico de 95° .... 100 ml.

Solución de Trabajo: Diluir la Safranina madre 1:10 con agua destilada y filtrar.

T é c n i c a

a) Preparar un extendido delgado del material en estudio; secar y fijar al calor.

- b) Cubrir con Cristal Violeta durante 1 minuto.
- c) Tirar el colorante y lavar con agua corriente.
- d) Cubrir con solución de Lugol durante 1 minuto.
- e) Lavar con agua corriente.
- f) Decolar con alcohol acetona
- g) Cubrir con safranina por un minuto.
- h) Examinar con objetivo de inmersión.

4. G I E M S A

T é c n i c a

- a) Prepare un extendido homogéneo sobre un porta-objetos limpio.  
Dejar secar al aire.
- b) Cubrir con alcohol metílico durante 1 minuto.
- c) Escurrir el alcohol y dejar secar.
- d) Cubrir con colorante de Giemsa (15 gotas) y dejar que reaccione durante 1 minuto.
- e) Agregar agua destilada (30 gotas) y continuar la coloración durante 10 minutos. Escurrir.
- f) Lavar con agua.
- g) Examinar con objetivo de inmersión.



5. Lactofenol Azul Algodón

Fenol, Cristales	.....	20 g.
Acido láctico	.....	20 g.
Glicerina	.....	40 g.
Agua destilada	.....	20 ml.

Disolver estos ingredientes por calentamiento lento en un baño de vapor. Agregar 0.05 g. de colorante azul algodón (Azul de Poirrier).

Se puede emplear para levaduras como para hongos, y sirve como líquido de montaje y colorante.

Procedimiento:

- a) Colocar una gota de este líquido en un porta-objeto limpio.
- b) Sobre esta gota, colocar una pequeña cantidad de cultivo.
- c) Cubrir con un cubreobjetos y presionar suavemente, para homogenizarlo.
- d) Examinar en el microscopio.

6. Tinta China

Procedimiento:

Sobre un portaobjeto se coloca el material clínico, sobre todo el líquido cefalorraquídeo, se aplica una gota de tinta china en el borde del cubreobjeto para que penetre por imbibición. Estas preparaciones deben examinarse de inmediato para evitar artefactos resultantes de la desecación..

Medios de Cultivo

1. Agar Dextrosado de Sabauraud

Peptona	.....	10 g.
D (+) Glucosa	.....	40 g.
Agar - Agar	.....	15 g.
Agua destilada	.....	1000 ml.

Disolver por agitación y ebullición. Dispensar una parte en tubos , estos y el resto esterilizar en Autoclave 15 minutos a 121°C.

El resto de medio estéril distribuir en placas fraccionadas estériles. Estas serán usadas para aislar las levaduras para su posterior clasificación. Los tubos con medios serán utilizados para la siembra inicial de muestras clínicas.

2. Agar Harina de Maíz (Corn meal agar).

Infusión harina de maíz	.....	50 g.
Agar	.....	15 g.
Tween 80	.....	10 ml.

Se calienta hasta hervir agitando constantemente hasta su completa disolución, luego esterilizar durante 15 minutos en autoclave a  $118^{\circ}\text{C}$  ó  $121^{\circ}\text{C}$ .

### 3. Caldo de Urea

Urea	.....	20 g.
Fosfato monopotásico	.....	9.1 g.
Fosfato disódico	.....	9.5 g.
Extracto de levadura	.....	0.1 g.
Rojo Fenol	.....	0.01 g.
Agua destilada	.....	1000 ml.

Disolver los reactivos. No calentar esterilizar por filtración a través de un filtro bacteriológico estéril.

Distribuir asépticamente el medio estéril en pequeños tubos de ensayo, en volúmenes de 1 ml.

### 4. Medios para la Asimilación de Azúcares por levaduras.

Se utiliza el API 20 C, sistema de rápido uso, micrometado que permite la realización de 19 pruebas de asimilación para la identificación de la mayoría de levaduras clínicamente significativas.

Reacciones químicas son completadas después de 72 horas de incubación a  $30^{\circ}\text{C}$ .

El API 20 C conciste de una serie de cúpulas conteniendo substratos deshidratados por la reacción de asimilación, estos -

sustratos son reconstituidos por la adición de una suspensión de levadura pura en API 20 C. Medio basal en las cúpulas. Estas tiras son incubadas a 30°C y leídas a las 24, 48 y 72 horas.

Materiales

- Tiras API 20 C con sustratos
- Ampollas con API 20 C Medio Basal
- Bandeja y tapadera plástica

Composición de API 20 C. Medio Basal

Nitrógeno base levadura .....	6.7 g.
Agar .....	7.0 g.
Agua destilada .....	1000 ml.

AZUCARES

Glucosa .....	1.2 mg.
Glycerol .....	1.2 mg.
2 -Keto - D - gluconato .....	1.2 mg.
L - Arabinosa .....	1.2 mg.
Xylosa .....	1.2 mg.

Adonital	.....	1.2 mg.
Xylitol	.....	1.2 mg.
Galactosa	.....	1.2 mg.
Inositol	.....	2.4 mg.
Sorbitol	.....	1.2 mg.
Metil - D - glucoside	.....	1.2 mg.
N - Acetil - D - glucosamine..		1.2 mg.
Celobiosa	.....	1.2 mg.
Lactosa	.....	1.2 mg.
Maltosa	.....	1.2 mg.
Sucrosa	.....	1.2 mg.
Treholosa	.....	1.2 mg.
Melezitose	.....	1.2 mg.
Rafinosa	.....	1.2 mg.

La asimilación de carbohidratos determina la habilidad de un organismo a utilizar carbohidratos como una sola fuente de carbono. Es evidenciada por crecimiento del organismo

El sistema API 20 C fue adquirido comercialmente.





REFERENCE NUMBER  PATIENT  SEX  AGE  SOURCE/SITE   
 DATE  DEPT./SERVICE  PHYSICIAN

	O	GLU	GLY	2KG	ARA	XYL	ADO	XLT	GAL	INO	SOR	MDG	NAG	CEL	LAC	MAL	SAC	TRE	MLZ	RAF	
24 H																					
48 H																					
72 H																					
Profile Number	C																				

ADDITIONAL INFORMATION

IDENTIFICATION

MICROSCOPIC MORPHOLOGY

00-42-009  
(4/84)

API WICKERHAM CARD



	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000	1100	1200	1300	1400	1500	1600	1700	1800	1900	2000
<i>Candida citrifilii</i>	0	100	100	96	99	100	98	99	0	98	97	100	99	0	96	100	100	94	99		
<i>Candida guilliermondii</i>	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>Candida humicola</i>	0	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100	100
<i>Candida krusei</i>	0	100	95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida lambica</i>	0	100	57	0	0	93	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida lipolytica</i>	0	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida lusitanae</i>	0	100	95	97	1	64	94	27	25	0	97	90	73	0	100	99	100	99	0	0	0
<i>Candida parapsilosis</i>	0	100	93	85	98	98	93	4	99	0	99	93	98	0	100	100	99	99	0	0	0
<i>Candida paratropicalis</i>	0	100	3	100	0	100	100	2	100	0	100	0	100	0	0	51	100	0	0	0	0
<i>Candida pseudotropicalis</i>	0	100	68	0	21	91	3	50	100	0	41	0	0	6	100	0	100	0	0	0	100
<i>Candida rugosa</i>	0	100	60	0	3	77	1	37	100	0	97	0	60	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Candida stellatoidea</i>	0	100	0	100	0	81	8	81	100	0	69	0	100	0	0	73	0	12	0	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	0	100	11	100	0	98	99	15	99	0	100	98	98	7	0	100	100	100	99	0	0
<i>Candida zeylanoides</i>	0	100	100	91	0	0	17	0	0	0	100	0	100	0	0	0	0	0	65	0	0
<i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>albidus</i>	0	100	0	97	94	100	6	6	35	77	85	79	27	100	65	100	100	82	100	44	0
<i>Cryptococcus albidus</i> var. <i>diffluens</i>	0	100	0	96	99	100	0	4	0	67	70	41	0	100	0	100	96	93	70	0	0
<i>Cryptococcus laurentii</i>	0	100	15	100	100	100	59	61	100	90	59	71	90	100	98	95	98	95	98	98	0
<i>Cryptococcus neoformans</i>	0	100	0	100	36	96	71	2	97	98	100	97	93	38	0	100	100	76	94	83	0
<i>Cryptococcus terreus</i>	0	100	0	100	80	100	0	0	53	40	100	0	93	93	47	7	60	0	0	0	0
<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	0	100	20	100	100	100	20	0	0	99	50	90	90	0	0	100	100	70	100	30	0
<i>Geotrichum</i> species <sup>1</sup>	0	100	100	0	0	100	0	0	100	0	80	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hanseniaspora guilliermondii</i>	0	100	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hanseniaspora uvarum</i>	0	100	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hanseniaspora valbyensis</i>	0	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0
<i>Hansenula anomala</i> var. <i>anomala</i>	0	100	100	0	0	47	1	3	3	0	76	100	0	37	0	100	100	97	100	29	0
<i>Kluyveromyces fragilis</i>	0	100	100	0	0	0	0	80	100	0	100	100	0	40	100	100	100	100	100	100	0
<i>Prioritheca stagnora</i> <sup>a</sup>	0	100	83	0	0	0	0	0	100	0	0	0	0	0	0	0	17	0	0	0	0
<i>Prioritheca wickerhamii</i> <sup>a</sup>	0	100	100	0	0	0	0	0	57	0	0	0	0	0	0	0	0	100	0	0	0
<i>Prioritheca zopfii</i> <sup>a</sup>	0	100	100	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rhodotorula glutinis</i>	0	100	78	67	33	61	50	28	78	0	67	39	0	11	0	100	100	100	100	100	0
<i>Rhodotorula minuta</i>	0	100	100	100	97	91	55	3	0	0	61	0	67	36	6	0	91	91	91	0	0
<i>Rhodotorula pillmanna</i>	0	100	50	1	90	100	90	70	60	0	40	0	0	0	0	0	100	80	0	100	0
<i>Rhodotorula rubra</i>	0	100	47	0	74	94	55	41	82	0	27	1	0	1	0	98	100	96	94	98	0
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0	100	22	0	0	0	0	0	93	0	1	39	0	0	0	85	100	56	34	81	0
<i>Sporobolomyces salmonicolor</i>	0	100	8	0	0	0	4	0	4	0	75	0	0	0	0	0	100	100	0	96	0
<i>Torulopsis rosei</i>	0	100	100	100	0	0	0	0	0	0	85	0	0	0	0	0	100	95	0	85	0
<i>Torulopsis candida</i>	0	100	98	100	70	70	100	90	100	0	100	100	100	100	50	100	100	100	90	90	0
<i>Torulopsis glabrata</i>	0	100	15	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	97	0	0
<i>Trichosporon beigelli</i> (cutaneum)	0	100	49	97	89	100	33	36	93	66	46	89	96	97	96	99	93	89	71	51	0
<i>Trichosporon capitatum</i>	0	100	96	0	0	0	0	0	4	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Trichosporon penicillatum</i>	0	100	100	0	0	100	0	0	90	0	95	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

<sup>1</sup>Figures indicate the percentage of positive reactions after 72 hours of incubation at 30°C.

<sup>a</sup>Negative control; if growth occurs in the control, all assimilations should be compared to the control.

B I B L I O G R A F I A

1. AJELLO, L., GEORG. L.K., KAPIAN, W. and KAUFMAN, L. 1966  
Laboratory Manual for Medical Mycology. Atlanta; Department  
of Health Education and Welfare, Public Health Service,  
C.D.C.
2. ALSINA, A., MASON, M., UPHOFF, R.A., RIGGSBY, S., BECKER,  
J.M. and MURPHY, D. 1988.  
Catheter - associated Candida utilis fungemia in patient  
with acquired immunodeficiency syndrome: species verification  
with a molecular probe J. Clin. Microbiol. 26: 621-624.
3. BAVA, A.J. 1987  
Relación entre la presencia de Candida y la flora microbiana  
de la vaginitis. Rev. Arg. Micología. 10:3-5.
4. BELLANTI, J.A. 1980  
Inmunología 2a. Edición, México, Interamericana.
5. BURNIE, J. 1985.  
A reverse passive latex agglutination test for the diagnosis  
of systemic candidosis. J. Immunol. Meth. 82: 267 - 279.
6. BURROWS, W. 1969.  
Tratado de Microbiología Médica 19a. edición. México, Inte-  
ramericana.

7. CARPENTER, P.L. 1961.  
Microbiology. Philadelphia, Saunder.
8. CONANT, N.E. 1972.  
Micología Médica, 3a. edición, México, Interamericana
9. DAVENPORT, J.C. 1970.  
The oral distribution of Candida in denture stomatitis.  
B. Dent, J. 129: 151 - 156.
10. DAVIS, B.D. 1984.  
Tratado de Microbiología, 3a. Edición, Barcelona.  
Salvat Editores.
11. EMMONS, 1977.  
Medical Mycology. 3a. Edición. Philadelphia, Lea and  
Febiger.
12. FERRATE, A. AND THONG, Y.H. 1979.  
Requirement of heat - labile opsonins for maximal  
phagocytosis of Candida albicans. Sabouraudia 17: 293:297.
13. GALASK, R.P. 1985.  
Vaginal colonization by bacteria and yeast. Am. J.Obst.Gynec.  
158: 993 - 995.
14. GERMAIND G. ST, AND LAVERDIERE, M. 1986.  
Torulopsis candida, a new opportunistic pathogen. J. Clin.  
Microbiol. 24: 884 - 885.

15. HARTMAN, P.A., CHAIR. 1988.  
Abstracts of the Annual Meeting of the American Society  
for Microbiology, Florida, Board.
16. HARVEY JOHNS. 1984.  
Tratado de Medicina Interna 20a. edición, México, Intera-  
mericana.
17. JAWETZ, E. et al. 1981.  
Manual de Microbiología Médica 9a. edición, México, Manual  
Moderno.
18. KAUFMAN, R.H. 1988.  
Establishing a correct diagnosis of vulvovaginal infection.  
Am. J. Obst. Gynec. 158: 986 - 988.
19. LODDER, J. 1970.  
The Yeast, North - Holland, Publishing Company.
20. MAMLOK, R.J. 1985.  
A case of intrauterine pulmonary candidiasis. Pediatric  
Infectious Disease. 4: 692 - 693.
21. MC KAY, M. 1988.  
Cutaneous manifestations of candidiasis.  
Am. J. Obst. Gynec. 158: 991 - 993.

22. MONACO, J.C. 1981.  
The role of Candida in inflammatory papillary hiperplasia.  
Dentistry. 45: 470 - 471.
  
23. MONIF, G.R.G. 1985.  
Classification and pathogenesis of vulvovaginal candidiasis.  
Am. J. Obst. Gynec. 152: 935 - 939.
  
24. MUERKOESTER, C.G. 1979.  
A comparison of hyphal growth of Candida albicans in six  
liquid media. Sabouraudia. 17: 55 - 64.
  
25. MURILLO DE LINARES, L. and MARIN, C. 1978.  
Frecuency of yeast of the genus Candida in humano, as  
pathogens and as part of normal flora. In the black and  
white yeast.  
P.A.H.O. Sc. Pub. No. 366: 124 - 132
  
26. MURILLO DE LINARES, L. 1981.  
Infecciones por levaduras de la uretra masculina.  
Arch. Col. Med. El Salvador. 36: 21 - 25.
  
27. NEGRONI, P. y R. 1984.  
Micosis cutáneas y viscerales, 8a. ed. Argentina, López  
Libreros.

28. NOLTE, W.A. 1982.  
Microbiología Odontológica, 3a. ed. México, Interamericana.
29. POLACHEK, I., MELAMED, M., BERCOVIER, H. and SALKIN, F. 1987.  
B - glucosidase in Candida albicans and its application  
in yeast identification. J. Clin. Microbiol. 25: 907 - 910.
30. RIPPON, J.W. 1982.  
Medical Mycology 3a. ed. Philadelphia. Saunders.
31. ROBERTSON, W.H. 1988.  
Mycology of vulvovaginitis. Am. J. Obst. Gynec.  
158:989 - 990.
32. SABISTON, D.C. 1981.  
Tratado de Patología Quirúrgica. 7a. ed. México, Interamericana.
33. SALKIN, T., LAND, G.A., HURD, N.J., GOLDSON, P.R. and  
MC GINNIS, M.R. 1987.  
Evaluation of yeast ident and uni-yeast-tek yeast identification system. J. Clin. Microbiol. 25: 624 - 627.
34. SAMARANA YAKE, L.P., WALKE, T. and WILLIAMSON, M. I. 1987.  
Comparison of Sabouraud Dextrose and Pagano - Levin Agar  
Media for detection and isolation of yeast from oral samples.  
J. Clin. Microbiol. 25: 162 - 164.