



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
NÚCLEO DE SUCRE
ESCUELA DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOANÁLISIS

UTILIDAD DE LAS GALERIAS DE API-20C AUX Y CHROMagar *Candida* PARA
LA IDENTIFICACIÓN DE *Candida dubliniensis*
(Modalidad: Tesis de Grado)

PEDRO JOSÉ DASILVA SANZON

TRABAJO DE GRADO PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OPTAR AL TÍTULO DE LICENCIADO EN BIOANÁLISIS

CUMANÁ, 2018

UTILIDAD DE LAS GALERIAS DE API-20C AUX Y CHROMagar *Candida* PARA
LA IDENTIFICACIÓN DE *Candida dubliniensis*

APROBADO POR

Profa. Evis Parra
Asesora

DEDICATORIA

A

Dios Todo poderoso, por guiarme por el camino del bien y darme la fortaleza para no decaer hasta alcanzarla.

Mis padres, Cesar Cristóbal Dasilva y Sonia Sanzon por estar siempre a mi lado con sus valiosos consejos, dedicación y apoyo, pero sobre todo por ser un ejemplo de trabajo y constancia en todo lo que emprenden, y demostrarme que si se puede.

Mis hermanos por su apoyo incondicional y ayuda constante en el transcurso de mi carrera muchas gracias a ustedes.

Todos mis amigos y compañeros, por su valiosa amistad y momentos vividos en el transcurso de mi carrera.

Todas aquellas personas que de una u otra manera confiaron en mí, apoyándome incondicionalmente en cada momento, sobre todo cuando desistí en algún momento de mi carrera, en especial a Norvidia Astudillo, que me ha brindado su comprensión desde que la conocí.

AGRADECIMIENTO

A

La Universidad de Oriente Núcleo de Sucre por brindarme sus instalaciones y a todos mis profesores de la carrera, quienes con su ética profesional me dieron toda la orientación y enseñanza para obtener las herramientas necesarias y ser un profesional del Bioanálisis. A todos ustedes gracias.

La profesora Evis Parra, mi asesora, por brindarme su tiempo, apoyo, orientación, confianza y sus conocimientos aportados en la elaboración de este trabajo. A usted profesora muchísimas gracias, por creer en mí.

Licenciada Yesenia Vargas y Licenciado José Barreto, por haberme brindado su apoyo en la parte estadística y conocimientos aportados en el desarrollo de este trabajo.

Todas las personas responsables de estimular este logro, mil gracias.

ÍNDICE

LISTA DE TABLAS	VI
RESUMEN.....	VIII
INTRODUCCIÓN.....	1
METODOLOGÍA.....	5
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	10
CONCLUSIONES.....	19
RECOMENDACIONES.....	20
BIBLIOGRAFÍA.....	21
ANEXOS	

LISTA DE TABLAS

	Pág.
1. Intensidad de color de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida dubliniensis</i> en medio Chromagar <i>Candida</i> bajo diferentes temperaturas incubación (28, 35, 37 y 39 °C). Tiempo de incubación: 24 horas.....	10
2. Intensidad del color de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida dubliniensis</i> aisladas de muestras clínicas de pacientes con candidosis en medio Chromagar <i>Candida</i> bajo diferentes temperaturas. Tiempo de incubación: 48 horas.....	11
3. Intensidad de color de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida dubliniensis</i> aisladas de muestras clínicas de pacientes con candidosis en medio Chromagar <i>Candida</i> bajo diferentes temperaturas. Tiempo de incubación: 72 horas.....	11
4. Porcentaje de reacciones positivas de las pruebas bioquímicas del Sistema API 20C AUX para la identificación de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida dubliniensis</i>	13
5. Reproducibilidad de las pruebas bioquímicas del Sistema API 20C AUX para la identificación de <i>Candida albicans</i> y <i>Candida dubliniensis</i>	14
6. Sensibilidad y especificidad del CHROMagar <i>Candida</i> y el sistema API 20C AUX para la identificación de <i>Candida dubliniensis</i>	16
7. Sensibilidad y especificidad de las pruebas de asimilación de xylosa, trehalosa y metil- α Dglucopiranosido del sistema API 20C AUX para la diferenciación de <i>Candida dubliniensis</i>	16

RESUMEN

Para evaluar la capacidad del CHROMagar *Candida* y el sistema API-20C AUX, para la identificación de *Candida dubliniensis*, se emplearon 6 aislamientos de *Candida dubliniensis* y 27 de *Candida albicans*. Las cepas fueron sembradas en el medio CHROMagar *Candida* e incubadas a diferentes temperaturas (28, 35, 37 y 39°C) durante 24, 48 y 72 horas. Igualmente, fueron identificadas utilizando el sistema API 20C AUX siguiendo las instrucciones del fabricante. Las variaciones de color observadas en la comparación de las colonias de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis* fueron mínimas. Se pudo observar un cambio en la intensidad del color verde en la detección de *Candida dubliniensis* (oscuro) en relación con *Candida albicans*, que conservó su coloración característica de verde esmeralda en la mayoría de sus cepas. El cambio de coloración se intensificó después de las 24 horas de incubación y a temperaturas mayores de 28°C; sin embargo, no ocurrió así en todas las cepas. La asimilación de xilosa (XYL), trehalosa (TRE) y metil- α Dglucopiranosido (MDG), pruebas contenidas en el sistema API 20C AUX, fueron negativas para todos los aislamientos de *Candida dubliniensis* y fueron positivas para 18 (XYL), 15 (MDG) y 23 (TRE) de las 27 cepas de *Candida albicans*. Los laboratorios de microbiología clínica podrían utilizar el desarrollo de las colonias en CHROMagar *Candida*, a 37°C durante 24 horas de incubación, y una prueba negativa de XYL y TRE, con el sistema de identificación de levaduras API 20C AUX, para proporcionar una identificación presuntiva de *Candida dubliniensis*. Un resultado negativo en la prueba de MDG también sería útil, pero puede clasificar erróneamente *Candida albicans* como *Candida dubliniensis*, cuando se utiliza con el sistema API 20C AUX.

INTRODUCCIÓN

Las levaduras del género *Candida*, son hongos dimórficos que pueden encontrarse en dos estados diferentes; en forma de esporas (blastosporas) que constituyen el fenotipo de extensión, diseminación y transmisión de la especie, y en forma de micelio, que es el fenotipo con capacidad germinativa, invasora tisular, que ocasiona la sintomatología propia de la infección. Estos microorganismos constituyen los agentes etiológicos de micosis oportunistas por excelencia, actuando principalmente, cuando hay alteraciones de la inmunidad celular, como es el caso de pacientes inmunosuprimidos, donde la gravedad de la infección depende de las alteraciones primarias en estos, más que de las propiedades patógenas del hongo (Mendoza y Díaz, 2001).

Los hongos del género *Candida* representan un grupo de levaduras de las cuales se han descrito aproximadamente 163 especies y que forman parte de la microbiota del hombre, colonizando mucosas del tracto gastrointestinal en un 60,0%, boca 40,0%, vagina 15,0% y piel 6,0%, aproximadamente. Al microscopio se observan como células redondeadas, ovales o gemantes; se hayan distribuidas a nivel mundial, con mayor frecuencia en climas cálidos y húmedos, su potencial patógeno varía considerablemente (Cantón *et al.*, 2001).

El comportamiento patógeno de *Candida* se debe principalmente a una biodiversidad fenotípica elevada; incluso las modificaciones ambientales mínimas pueden cambiar su comportamiento mediante la aparición de propiedades nuevas y amplificadas, como la formación de tubos germinales, la adhesión, la secreción de proteasas, entre otras. Estas nuevas propiedades invasivas, unidas a la alteración de las defensas del huésped, provocan una patogenicidad oportunista de *Candida* (Senet, 1997).

La candidosis es una micosis primaria o principalmente secundaria, ocasionada por las levaduras del género *Candida*. Las manifestaciones clínicas son localizadas,

diseminadas o sistémicas; puede afectar piel, mucosas u órganos internos. Las alteraciones histopatológicas varían desde inflamación mínima hasta supuración o reacciones granulomatosas. Aunque *Candida albicans* ha sido el agente más frecuente en la candidosis orofaríngea en pacientes inmunosuprimidos, en estos últimos años su prevalencia ha disminuido; favoreciéndose otras especies tales como *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* y una nueva especie denominada *C. dubliniensis* (Arenas, 2003; Khlifet *et al.*, 2008).

Candida dubliniensis fue descrita por Sullivan y Coleman en 1998, esta especie se encuentra asociada a lesiones orales de pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y está relacionada filogenéticamente con *C. albicans*. La taxonomía correspondiente a esta nueva especie, es la siguiente: Clase Blastomycetes, Orden Moniliales, Familia *Cryptococcaceae*.

Inicialmente, se aisló de candidosis orofaríngeas de pacientes con síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA); sin embargo, se han publicado numerosos trabajos donde señalan su presencia en todo tipo de muestras clínicas y en enfermos con o sin infección por el VIH. Ambas especies comparten características morfológicas, fisiológicas y presentan patrones bioquímicos similares, lo que hace dificultosa la diferenciación entre las mismas y algunos aislamientos pueden haber sido identificados erróneamente. Varios investigadores han realizado estudios retrospectivos para reubicar cepas previamente catalogadas como *C. albicans* (Perurena *et al.*, 2006; Sanabria *et al.*, 2006; Pineda *et al.* 2008).

C. albicans y *C. dubliniensis* presentan un color similar en medios con sustratos cromogénicos, tienen la capacidad de formar tubos germinativos y clamidoconidias en los medios habituales (agar leche, agar harina de maíz con Tween 80). Sin embargo, una de las características que tiene *C. dubliniensis* es la capacidad de desarrollar resistencia frente a fluconazol (Eraso *et al.*, 2006). Por otra parte, ya se han desarrollado métodos como la amplificación de segmentos de ácido desoxirribonucleico (ADN), mediante la

reacción en cadena de la polimerasa (PCR), basadas en las características genotípicas que permitirían identificar adecuadamente, a esta nueva especie de *Candida* pero no todos los laboratorios de diagnóstico micológico cuentan con esta tecnología (Ahmad *et al.*, 2005).

En la mayoría de los pacientes inmunosuprimidos en etapa temprana o inicial de la infección por VIH, ocurre un aumento substancial de levaduras especialmente del género *Candida*, hasta llegar a cantidades mucho mayores que las que presentan personas sanas. Se llega a establecer un proceso infeccioso, lo que es indicativo de que los mecanismos inmunológicos están seriamente comprometidos, debido a que un hongo que es comúnmente microbiota indígena de cavidad oral establece una micosis con un cuadro clínico asociado (Sullivan *et al.*, 1997).

La razón del cambio epidemiológico que está provocando el aumento en la frecuencia de pacientes infectados por *C. dubliniensis* no está clara, aunque se ha sugerido que la reducida sensibilidad de esta especie a los antifúngicos utilizados comúnmente, como el fluconazol, puede haber sido la causa de aumento de esta especie en pacientes inmunosuprimidos. *C. dubliniensis* es una de las especies emergentes que parecía estar asociada principalmente, con la infección oral en pacientes infectados con el VIH; sin embargo, ha sido aislada también en otras localizaciones anatómicas de individuos sanos y en casos de infección sistémica (Wingard *et al.*, 1991).

La estrecha relación fenotípica y genotípica que existe entre *C. dubliniensis* y *C. albicans* ha llevado a identificar incorrectamente, la mayoría de los aislamientos tanto de *C. albicans* como de *C. dubliniensis*. Por tal motivo, una gran variedad de métodos han sido desarrollados para distinguirlas, los cuales varían en tiempo, especificidad, sensibilidad, costos, entre otros. De esta manera, cada laboratorio puede adoptar los más acordes a su capacidad y disponibilidad (Schoofs *et al.*, 1997).

Entre estos métodos tenemos: la sensibilidad al estrés (temperatura, salinidad), crecimiento en medios específicos (CHROM agar), asimilación y fermentación de carbohidratos (maltosa, sacarosa, galactosa, celobiosa, xilosa y lactosa), sistemas comerciales estandarizados (API-20C AUX); y a pesar de que ambas especies producen clamidoconidias algunos autores señalan que *C. dubliniensis* produce en mayor cantidad y en disposiciones diferentes que *C. albicans*. También se han desarrollado una serie de pruebas fenotípicas y genotípicas que han permitido la identificación rápida y certera de *C. dubliniensis* en muestras clínicas (Mosca *et al.*, 2005; Linares y Solís, 2007).

Debido a que las pruebas de identificación fenotípicas y genotípicas son de alto costo, no todos los laboratorios clínicos pueden aplicarlas, por lo tanto, es necesario probar métodos más económicos, accesibles y confiables, que complementen los métodos convencionales de una manera rápida, para la eficiente identificación de *C. dubliniensis*. Por lo anteriormente expuesto, se planteó la realización de este estudio con la finalidad de evaluar la utilidad del sistema comercial API-20C AUX y el medio CHROMagar *Candida* para la identificación de *C. dubliniensis*.

METODOLOGÍA

Muestra

La muestra poblacional estuvo conformada por 60 cepas de *C. albicans* y 6 de *C. dubliniensis* recolectadas durante los meses enero y noviembre de 2011. Las cepas fueron obtenidas de diversas muestras clínicas y provenientes de diferentes servicios de los siguientes centros hospitalarios de Cumaná, estado Sucre: Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez”, Hospital tipo I “Salvador Allende” y Ambulatorio “Dr. Ramón Martínez”; las mismas fueron identificadas en el Laboratorio de Micología del Departamento de Bioanálisis, Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre. Las cepas de *C. dubliniensis* aisladas e identificadas por métodos convencionales, fueron confirmadas molecularmente por la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) (Higuerey y Ortiz, 2011). Todas las cepas se mantuvieron conservadas en tubos con agar extracto de malta (AEM) inclinado a 5°C, hasta su posterior uso.

Recuperación de cepas

Las cepas se resuspendieron en agar extracto de malta (AEM), para su recuperación, luego fueron incubadas a 37°C durante 24 a 48 horas, una vez obtenido el crecimiento se procedió a verificar la pureza de las mismas.

Verificación de la pureza de las cepas

Para confirmar la pureza de las cepas de *C. albicans* y *C. dubliniensis* se realizaron pruebas convencionales rápidas en el laboratorio como: filamentización en suero, producción de clamidoconidias, prueba de termotolerancia y fermentación de azúcares (zimograma).

Producción de tubo germinal o filamentización en suero: se colocó una pequeña porción de una colonia obtenida de un cultivo de 24 horas en 0,5 ml de suero y se incubó a 37°C por 2 horas. Transcurrido este tiempo, se colocó una gota de la suspensión entre lámina y laminilla y se observó al microscopio (40X). Esta prueba es positiva para *C. albicans*,

quien produce un tubo fino y continuo, sin constricción en el lugar de origen (Cuétara *et al.*, 2006).

Prueba de termotolerancia: las colonias se sembraron en agar Sabouraud dextrosa (ASD) y se incubaron a temperatura de 37 y 42°C por 24-48 horas. La mayoría de las especies de *Candida* no *albicans*, no crecen a temperaturas mayores de 37°C (Pinjon *et al.*, 1998).

Producción de clamidoconidias: para obtener esta estructura de resistencia característica de *C. albicans* y *C. dubliniensis*, se utilizaron placas con el medio agar harina de maíz (AHM), suplementado con extracto de levadura al 1%, dextrosa 3% y sacarosa 2%, se inoculó en la superficie del agar una pequeña porción de la colonia de levadura, se le colocó encima una lámina cubreobjetos y luego se incubó a 28°C por 24-48 horas. Transcurrido este tiempo, las clamidoconidias se observaron al microscopio como estructuras redondeadas, de pared gruesa y lisa, con inclusiones citoplasmáticas; por lo general se ubican en posición terminal en la pseudohifa, aunque también pueden presentarse intercaladas (Pardi *et al.*, 2003).

Fermentación de azúcares (zimograma): se fundamenta en la propiedad que tienen las levaduras de utilizar los azúcares en anaerobiosis, lo cual se evidencia por la producción de gas. Para esta prueba se utilizaron los siguientes azúcares: glucosa, maltosa, sacarosa, galactosa, trehalosa y lactosa en concentración al 2,0% y rafinosa al 4,0%, los cuales se prepararon en medio basal extracto de malta al 1%. La formación de gas (CO₂) se detectó incorporando al medio líquido un tubo de Durham invertido. La observación se realizó diariamente, debido a que el gas se puede reabsorber. Para inocular las cepas se preparó una suspensión de la levadura aislada (patrón McFarland N° 4), luego, se añadieron 3 gotas de esta suspensión a los tubos que contienen los azúcares antes mencionados con el tubo de Durham invertido, se agitaron suavemente e incubaron a 28°C por 21 días (Lasker *et al.*, 2001). Se consideró la prueba de fermentación positiva al observar formación de gas (CO₂) dentro del tubo de Durham invertido. Los resultados se interpretaron según tabla de identificación de levaduras (anexo 1).

Evaluación del crecimiento de *Candida dubliniensis* en CHROMagar *Candida*

Para ello se emplearon placas con el medio CHROMagar *Candida* (Oxoid), se sembraron las cepas de *C. albicans* y *C. dubliniensis*, según técnicas convencionales, y se incubaron a diferentes temperaturas (rango de 28-39°C) durante 24 a 72 horas, para que las levaduras desarrollaran el color que las caracteriza. El fundamento de la prueba se basa en la detección de actividades enzimáticas por parte de las levaduras mediante la hidrólisis específica de un sustrato cromogénico en presencia de un indicador. Se pueden identificar tres (3) especies con una alta confiabilidad por el color de la colonia. *C. tropicalis* produce colonias lisas, cremosas de color azul intenso o colonias verde azuladas oscuras y ambas con tono metálico; *C. krusei* produce colonias de color rosa pálido, de aspecto veloso o ligeramente aterciopelado, opaco o seco y de superficie plana; *C. albicans* (igual que *C. dubliniensis*) produce colonias de color verde esmeralda, brillantes, lisas y cremosas (Koehler *et al.*, 1999).

Sistema Comercial Galerías API 20C AUX (Biomérieux)

A partir de una colonia crecida en agar Sabouraud de 24 a 40 horas de desarrollo, se inoculó una galería API-20C AUX. La galería API-20C AUX se compone de 19 pocillos con sustratos deshidratados que permiten realizar 19 pruebas de asimilación. Los pocillos se inoculan con un medio mínimo semisólido y las levaduras sólo se reproducen si son capaces de utilizar el sustrato correspondiente. Permite identificar un total de 34 especies diferentes de levaduras patógenas. La lectura de estas reacciones se hizo por comparación con un control de crecimiento y la identificación se obtuvo, a partir de un código numérico, mediante un catálogo analítico proporcionado por la casa comercial.

Procedimiento

A partir de un cultivo joven de la levadura a identificar, se realizó una suspensión en 2 ml de agua destilada estéril hasta obtener una turbidez igual al tubo N°2 en la escala de McFarland. Se transfirieron 100 µl (2 gotas) de esta suspensión a una ampolla de C Medium (contenido en el kit) y se homogeneizó evitando la formación de burbujas. Se

llenaron los pocillos de la tira API, con la suspensión anterior, evitando la formación de burbujas y creando un nivel horizontal para generar resultados correctos. Se incubó a 28-30°C durante 48-72 horas. Se observó el crecimiento de las levaduras en comparación con la cúpula del control negativo. Una cúpula más turbia que el testigo indicó una reacción positiva que se anotó en una hoja de resultados. Los diferentes nutrientes se separaron en grupos de tres y se adjudicó a cada uno, en los casos que resultaron positivos, un valor diferente: 1 para el primero, 2 para el segundo y 4 para el que ocupaba el tercer lugar.

Sumando cada triplete se obtuvo un número de siete cifras que constituye el perfil numérico. El séptimo dígito se obtuvo teniendo en cuenta los resultados de la observación al microscopio de las hifas. La identificación se realizó mediante el catálogo analítico de identificación suministrado por el fabricante.

Determinación del porcentaje de la sensibilidad y especificidad de las pruebas para la Identificación de *Candida dubliniensis*

Se determinaron los parámetros verticales (sensibilidad y especificidad), parámetros horizontales (valor predictivo para resultados positivos y valor predictivo para resultados negativos) mediante las siguientes formulas (Mazziotta y Fernández, 2005):

$$\text{Sensibilidad} = \frac{\text{VP} \times 100}{(\text{VP} + \text{FN})}$$

$$\text{Especificidad} = \frac{\text{VN} \times 100}{(\text{VN} + \text{FP})}$$

$$\text{Valor Predictivo Positivo} = \frac{\text{VP} \times 100}{(\text{VP} + \text{FP})}$$

$$\text{Valor Predictivo Negativo} = \frac{\text{VN} \times 100}{(\text{FN} + \text{VN})}$$

Dónde; VP: verdaderos positivos, VN: verdaderos negativos, FP: falsos positivos, FN: falsos negativos.

Análisis estadístico

Los resultados obtenidos fueron analizados mediante la aplicación de estadísticas descriptivas y representados en tablas (Jiménez, 2000).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente estudio se evaluaron 66 cepas, 60 correspondiente a *C. albicans* y 6 a *C. dubliniensis*, obtenidas de diversas muestras clínicas provenientes de diferentes servicios centros hospitalarios de Cumaná, estado Sucre: Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá”, Hospital de Veteranos “Julio Rodríguez”, Hospital tipo I “Salvador Allende” y Ambulatorio “Dr. Ramón Martínez, a fin de evaluar el desarrollo y crecimiento de éstas en el medio CHROMagar *Candida*.

En la tabla 1 se presenta la intensidad del color verde desarrollado por las colonias de *C. albicans* y *C. dubliniensis* en el medio CHROMagar *Candida* a las 24 horas de incubación y bajo diferentes temperaturas (28, 35, 37 y 39 °C), observándose un cambio en la intensidad del color verde en *C. dubliniensis* en relación con *C. albicans* que conservó su coloración característica de verde esmeralda, apreciándose mejor a los 35 °C (59,2%) para *C. albicans* y a los 37 °C (83,3%) para *C. dubliniensis*.

Tabla 1. Intensidad de color de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis* en medio Chromagar *Candida* bajo diferentes temperaturas de incubación (28, 35, 37 y 39 °C). Tiempo de incubación: 24 horas.

Temperatura de incubación (°C)	Color de la colonia							
	<i>Candida albicans</i> (27)				<i>Candida dubliniensis</i> (6)			
	VO		VE		VO		VE	
	n	%	n	%	n	%	n	%
28	12	44,4	15	55,5	3	50,0	3	50,0
35	11	40,7	16	59,2	4	66,6	2	33,3
37	13	48,1	14	51,8	5	83,3	1	16,6
39	12	44,4	15	55,5	3	50,0	3	50,0

n: número de cepas; %: porcentaje; VO: verde oscuro; VE: verde esmeralda

En la tabla 2 se muestran los resultados de la intensidad del color desarrollado por *C. albicans* y *C. dubliniensis* en medio cromogénico a las 48 horas de incubación y bajo diferentes temperaturas (28, 35, 37 y 39 °C), donde se destaca una mayor conservación

de la intensidad del color de *C. albicans* a la temperatura de 28 °C y un cambio de color verde oscuro para *C. dubliniensis*, a los 37 °C de incubación; sin embargo, esto no ocurre en todas las cepas.

Tabla 2. Intensidad del color de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis* aisladas de muestras clínicas de pacientes con candidosis en medio Chromagar *Candida* bajo diferentes temperaturas. Tiempo de incubación: 48 horas.

Temperatura de incubación (°C)	Color de la colonia			
	<i>Candida albicans</i>		<i>Candida dubliniensis</i>	
	VO	VE	VO	VE
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
28	7 (25,9)	20(74,0)	3(50,0)	3(50,0)
35	14(51,8)	13(48,1)	3(50,0)	3(50,0)
37	14(51,8)	13(48,1)	3(50,0)	3(50,0)
39	16(59,2)	11(40,7)	4(66,6)	2(33,3)

n: número de cepas; %: porcentaje; VO: verde oscuro; VE: verde esmeralda.

En la tabla 3 se presenta la intensidad de color desarrollado por las cepas de *C. albicans* y *C. dubliniensis*, en el medio Chromagar *Candida* a las 72 horas de incubación y bajo diferentes temperaturas (28, 35, 37 y 39 °C).

Tabla 3. Intensidad de color de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis* aisladas de muestras clínicas de pacientes con candidosis en medio Chromagar *Candida* bajo diferentes temperaturas. Tiempo de incubación: 72 horas.

Temperatura de incubación (°C)	Color de la colonia			
	<i>Candida albicans</i>		<i>Candida dubliniensis</i>	
	VO	VE	VO	VE
	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
28	10(37,0)	17(62,9)	3(50,0)	3(50,0)
35	14(51,8)	13(48,1)	4(66,6)	2(33,3)
37	13(48,1)	14(51,8)	5(83,3)	1(16,6)
39	15(55,5)	12(44,4)	5(83,3)	1(16,6)

n: número de cepas; %: porcentaje; VO: verde oscuro; VE: verde esmeralda.

Las variaciones de color observadas en la comparación del medio a diferentes temperaturas de incubación, para ambas especies, fueron mínimas. Cabe destacar un cambio en la intensidad del color verde en la detección de *C. dubliniensis* (verde oscuro) en relación con *C. albicans*, que mayormente conservó su coloración característica a las 72 horas de incubación. Este resultado se aprecia mejor a los 28°C de incubación para *C. albicans* (74,0%) y a los 39°C para *C. dubliniensis* (66,6%).

Resultados similares fueron obtenidos por otros autores en estudios comparativos del medio CHROMagar *Candida* en correspondencia con el tiempo de incubación y la intensidad del color de las cepas, mostrando que a las 24 horas de incubación la sensibilidad en el medio fue de 49,6%; luego de 48 horas se obtuvo un 98,9% y después de 72 horas se alcanzó una sensibilidad del 100,0% (Quindós *et al.*, 2001; Willinger *et al.*, 2001; Letscher *et al.*, 2002).

Según estudios realizados por Ellepola *et al.* (2003) y Freydiere *et al.* (2001), *C. dubliniensis* produce colonias de color verde más oscuro que *C. albicans* en el medio de CHROMagar *Candida*. Sin embargo, otros autores indican que no siempre se evidencia la diferencia de color y que basarse solamente en este aspecto puede llevar a confusión (Sullivan *et al.*, 1998; Ballesté *et al.*, 2005; López *et al.*, 2005).

En la tabla 4 se muestra el porcentaje de reacciones positivas de las pruebas bioquímicas del sistema API 20C AUX, las pruebas de XYL y TRE presentaron una asimilación del 80,0% respectivamente, y 54,0% para MDG, en las cepas de *Candida albicans*, sin embargo; no se evidenció asimilación alguna de estas pruebas en la cepa de *C. dubliniensis*.

Con el fin de evaluar la reproducibilidad de las pruebas bioquímicas contenidas en las tiras de API, se seleccionaron 5 cepas de *C. dubliniensis* y 5 *C. albicans* al azar, de las cuales se realizaron 3 réplicas de las mismas para obtener un nuevo análisis con un total de 15 cepas para cada especie, los resultados de esta prueba se muestran en la tabla 5. El API 20C AUX mostró excelente reproducibilidad de la TRE, XYL y MDG pruebas

diferenciales para *C. dubliniensis* y *C. albicans*. La precisión cualitativa combinada de las pruebas fue de 100,0 %. Sin embargo, se observaron dos variaciones para la prueba de asimilación de TRE cuando se ensayaron cepas de *C. albicans* y una variación para XYL y MDG. En cambio, para *C. dubliniensis* no se observaron variaciones de estas pruebas.

Tabla 4. Porcentaje de reacciones positivas de las pruebas bioquímicas del Sistema API 20C AUX para la identificación de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*.

Prueba	Positividad (%)	
	<i>Candida albicans</i> (n=27)	<i>Candida dubliniensis</i> (n=6)
CN	0	0
GLU	100	100
GLY	95	90
2XG	45	25
ARA	80	20
XYL	80	0
ADO	55	10
XLT	65	13
GAL	100	15
INO	0	10
SOR	100	13
MDG	54	0
NAG	75	33
CEL	0	25
LAC	95	30
MAL	100	15
SAC	55	20
TRE	80	0
MLZ	5	10
RAF	0	15
HIF	100	10

n: número de cepas; CN: Control negativo; GLU: D-glucosa; GLY: glicerol; 2KG: 2-ceto-gluconato; ARA: L-arabinosa; XYL: xylosa; ADO: adonitol; XLT: xilitol; GAL: D-galactosa; INO: inositol; SOR: D-sorbitol; MDG: metil- α Dglucopiranosido; NAG: N-acetil-glucosamina; CEL: D-celobiosa; LAC: D-lactosa; MAL: D-maltosa; SAC: D-sacarosa; TRE: D-trehalosa; MLZ: M-melezitosa; RAF: D-rafinosa; HIF: Hifas.

Tabla 5. Reproducibilidad de las pruebas bioquímicas del Sistema API 20C AUX para la identificación de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*.

Prueba	n° de variaciones/Total de aisladas	
	<i>Candida albicans</i> (n=5)	<i>Candida dubliniensis</i> (n=5)
GLU	0/15	0/15
GLY	5/15	1/15
2XG	5/15	1/15
ARA	3/15	2/15
XYL	1/15	0/15
ADO	3/15	2/15
XLT	4/15	2/15
GAL	0/15	0/15
INO	1/15	0/15
SOR	1/15	2/15
MDG	1/15	0/15
NAG	5/15	1/15
CEL	1/15	3/15
LAC	2/15	3/15
MAL	3/15	2/15
SAC	3/15	1/15
TRE	2/15	0/15
MLZ	1/15	1/15
RAF	5/15	2/15
HIF	0/15	0/15

n: número de cepas; CN: Control negativo; GLU: D-glucosa; GLY: glicerol; 2KG: 2-ceto-gluconato; ARA: L-arabinosa; XYL: xylosa; ADO: adonitol; XLT: xilitol; GAL: D-galactosa; INO: inositol; SOR: D-sorbitol; MDG: metil- α Dglucopiranosido; NAG: N-acetil-glucosamina; CEL: D-celobiosa; LAC: D-lactosa; MAL: D-maltosa; SAC: D-sacarosa; TRE: D-trehalosa; MLZ: M-melezitosa; RAF: D-rafinosa; HIF: Hifas.

Las características bioquímicas de las levaduras han sido consideradas elementos taxonómicos de gran importancia; sin embargo, se ha extendido el criterio de asociar otros caracteres para llegar a una identificación más exacta como lo es, la asimilación del substrato; la cual se basa en el desarrollo del crecimiento de la levadura en presencia de un carbohidrato puro, considerándose como un método convencional para la identificación. El incremento de las infecciones por levaduras en pacientes inmunocomprometidos exigió simplificar los métodos de identificación, permitiendo el desarrollo de varias alternativas, como la fermentación y asimilación de carbohidratos.

El API 20C AUX fue el más usado por su fácil manejo, se basó en 20 pozos con substratos deshidratados (azúcares) donde se inoculó la cepa de la levadura por un periodo de 48 a 72 horas de incubación y a temperaturas óptimas de crecimiento donde se lograba la asimilación del substrato si la levadura crecía y así permitía la identificación de la levadura (Guevara *et al.*, 2007).

Varios estudios han tenido como objetivo la comparación de los métodos semiautomatizados y automatizados, los cuales buscaban dar respuestas a las necesidades de los laboratorios que relacionaban el tiempo de desarrollo de las pruebas y su precisión, así como con su economía. En esta búsqueda, Pincus (1999) evaluó las pruebas API 20C AUX System y el ID32C System para la identificación de *Candida dubliniensis*, con lo cual se demostró que ambas son útiles ya que incluían la trehalosa (TRE) uno de los carbohidratos que al ser asimilado por esta especie, permitió la identificación del 15,0% de las cepas aisladas. Adicionalmente, la prueba RapIDYeast Plus System podía evaluar la enzima fosfatasa, la cual presentaba un porcentaje que permitió diferenciar *C. dubliniensis* de *C. albicans* (9,0% y 76,0%, respectivamente) con mayor efectividad. Por último, los porcentajes de asimilación de MGD 10,0% y 90,0%, xilosa del 0,0% y 95,0% y glicina del 26,0% y 85,0%, en VITEK YBC System (automatizado) demostraron, que debido a que estos son diferentes después de 24 horas de incubación, permitían una discriminación entre estas dos especies .

En la tabla 6 se muestran los valores de sensibilidad y especificidad del CHROMagar *Candida* y el sistema API 20C AUX para la identificación de *C. albicans* y *C. dubliniensis*, se observa que ambas pruebas presentan buena sensibilidad con 83,3% y 75,0%, respectivamente. Sin embargo, resultaron ser medianamente específicas evidenciándose un 51,8% y 55,0% para CHROMagar *Candida* y el sistema API 20C AUX, respectivamente. En referencia a la tabla 7, se puede observar que el sistema API mostró una buena sensibilidad para las tres pruebas evaluadas, reflejando un 100,0% para XYL y TRE, y de 95,0% para MDG. Sin embargo, el sistema mostró mayor

especificidad para TRE con un 85,0% por encima de las dos pruebas restantes: MDG (55,0%) y XYL (45,0%).

Tabla 6. Sensibilidad y especificidad del CHROMagar *Candida* y el sistema API 20C AUX para la identificación de *Candida dubliniensis*.

	CHROMagar <i>Candida</i>	API 20C AUX
Sensibilidad (%)	83,3	75,0
Especificidad (%)	51,8	55,0
VPPN (%)	93,3	92,5
VPPP (%)	27,7	35,5

VPPN: valor predictivo negativo; VPPP: valor predictivo positivo.

Tabla 7. Sensibilidad y especificidad de las pruebas de asimilación de xylosa, trehalosa y metil- α Dglucopiranosido del sistema API 20C AUX para la diferenciación de *Candida dubliniensis*.

	Pruebas		
	XYL	TRE	MDG
Sensibilidad (%)	100	100	95
Especificidad (%)	45	85	55

n: número de cepas; XYL: xylosa; MDG: metil- α Dglucopiranosido; TRE: D-trehalosa; %: Porcentaje.

El medio agar cromogénico, CHROMagar *Candida*, es de gran ayuda para la identificación de cepas de *C. albicans* y *C. dubliniensis* siendo un método sensible y específico. Es un medio muy útil para la diferenciación e identificación presuntiva rápida de levaduras, tanto a partir de cepas aisladas como de muestras clínicas, lo que resulta de gran interés, especialmente para el caso de pacientes inmunocomprometidos para los cuales la celeridad del diagnóstico es de fundamental importancia. Por su parte, el sistema API 20C AUX es un sistema semiautomatizado que ayuda a la diferenciación de cepas de *C. albicans* y *C. dubliniensis* como en este caso que resultó un método sensible y específico, al corroborar las especies de *Candida* detectadas, lo que permite reafirmar el hecho de que siguen siendo, las pruebas de fermentación y asimilación de compuestos de carbono, las más utilizadas para la corroboración e identificación de levaduras. El auxonograma o capacidad de las levaduras para utilizar o asimilar

diferentes compuestos de carbono es hoy día, el criterio taxonómico más aceptado (Giusano *et al.*, 1998).

Ruiz *et al.* (2003), realizaron un estudio comparativo donde evaluaron la nueva fórmula del medio CHROMagar *Candida* (CHROM-R) frente a la fórmula del original (CHROM-O), considerando la capacidad de crecimiento y la identificación de las colonias, y posteriormente realizaron un estudio comparativo del medio, reformulado con un nuevo medio de similar composición (CHROM-M) de otra casa comercial (MAIM, Izasa). Los resultados obtenidos basados en que el medio reformulado permite la posibilidad de distinguir entre *C. albicans* y *C. dubliniensis*, no teniendo esta capacidad el medio original, ni el nuevo medio CHROM-M. El medio CHROMagar de MAIM no demostró la misma eficacia para la identificación de especies de levaduras que el medio CHROMagar *Candida* de Becton-Dickinson, ya que presenta una menor sensibilidad, necesita un mayor tiempo de incubación para que las colonias se desarrollen y dificulta la diferenciación de algunas especies de interés clínico como *C. tropicalis* y *C. parapsilosis*. No es tampoco un medio apropiado para la identificación de *C. dubliniensis*, siendo el color de ésta semejante al de *C. albicans*. El medio CHROM-R presenta frente a éste, sin duda, una mayor sensibilidad y especificidad para la identificación de *C. albicans*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. tropicalis* y *C. dubliniensis*. En vista de ello, y dado que el medio cromogénico CHROMagar *Candida* reformulado de Becton-Dickinson ha sido bien evaluado por otros autores (García *et al.*, 1998; San Millán *et al.*, 1996; Odds y Bernaerts, 1994; Jabra *et al.*, 2001), y el nuevo medio CHROMagar de MAIM no mejora las características de los anteriores, se sigue utilizando en el trabajo rutinario de laboratorio el medio CHROMagar *Candida* reformulado.

En un estudio realizado por López *et al.* (2005), se tomaron 64 hisopados de la mucosa bucal de pacientes que presentaban lesiones características de candidosis, resultando 44 (69,0%) positivos, de ellos se aislaron 27 (61,0%) cepas de *C. albicans*, 10 (23,0%) de *C. parapsilosis*, 3 (7,0%) de *C. tropicalis*, 2 (4,5%) de *C. krusei* y 2 (4,5%) de *C. glabrata*. Al comparar las técnicas que utilizaron para identificar *C. albicans* (agar

harina de maíz y formación de tubos germinativos) no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos métodos, así mismo comparando los métodos que discriminan especies de *Candida*, entre ellas CHROMagar, API 20C AUX y PCR fingerprinting, se observó que no existían diferencias significativas en las proporciones de resultados que identifican las especies de *Candida* entre estas pruebas. La prueba de tubo germinativo, solo permitió identificar rápidamente a *C. albicans*, pero no así inferir sobre la identidad de los demás aislamientos. La prueba de clamidoconidias en agar harina de maíz permitió corroborar la especie *C. albicans*, pero dicha presunción tuvo únicamente valor taxonómico orientativo, dado que *C. dubliniensis* también desarrolla clamidoconidias en este medio. Las pruebas bioquímicas o fisiológicas de asimilación de sustancias hidrocarbonadas y nitrogenadas, así como también las pruebas de fermentación de carbohidratos arrojaron una positividad del 98,0% para las 44 cepas estudiadas mediante el sistema comercial API 20C AUX. EL desarrollo observado en las colonias sembradas en el medio agar cromogénico CHROMagar, permitió determinar el color, la textura y la macro morfología de las mismas, en algunos casos, en forma presuntiva pudiéndose asignar a cada uno la especie correspondiente (López *et al.*, 2005).

Los medios con sustratos cromogénicos son de gran ayuda para la identificación presuntiva de distintas levaduras, a la vez que permiten reconocer la existencia de infecciones por más de una especie simultáneamente. Sin embargo, las colonias se presentan en una gama de color determinado y la caracterización del mismo depende del observador. Por este motivo, no siempre es sencillo discriminar entre variaciones de tonalidades de un color para asignar solamente con esto la correspondencia con la especie aislada (Pineda *et al.*, 2008).

CONCLUSIONES

EL medio agar cromogénico CHROMagar resultó de gran utilidad clínica, ya que se pudo dar una identificación presuntiva en un tiempo corto y rápido del 55% de las cepas de *Candida dubliniensis* en pacientes hospitalizados.

En este estudio se demostró la importancia de la utilización del sistema API 20C AUX para la diferenciación entre *Candida dubliniensis* y *Candida albicans*, además de presentar alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico clínico.

La negatividad en las pruebas de xilosa (XYL) y metil- α Dglucopiranosido (MDG) resultó fuertemente sugestiva de *Candida dubliniensis*, por lo que la utilización de estas pruebas sería de gran utilidad para los laboratorios clínicos ya que permitiría un importante ahorro económico en el proceso de identificación y diferenciación de esta especie, lo que a su vez pudiera tener importantes implicaciones terapéuticas.

RECOMENDACIONES

Se debe usar con entera confianza los métodos de CHROMagar y sistema API 20C AUX, específicamente las pruebas de XYL, TRE y MDG en el diagnóstico micológico, ya que se obtienen resultados en corto tiempo para la identificación y diferenciación de *Candida dubliniensis* de importancia clínica. Sin embargo, deben tomarse en consideración las limitaciones que estos presentan y adicionarles pruebas que contribuyan a una mejor diferenciación entre especies.

BIBLIOGRAFÍA

Ahmad, S.; Mocadas, E; Al-Sweih, N. y Kan, Z. 2005. Phenotypic and molecular characterization of *Candida dubliniensis* isolates from clinical specimens in Kuwait. Med. Princ. and Prac., 14(1): 77-83.

Arenas, R. 2003. Micología médica ilustrada. Segunda edición. Editorial McGraw-Hill Interamericana. México.

Ballesté, R.; Arteta, Z.; Fernández, N.; Mier, C.; Mousqués, N. y Xavier, B. 2005. Evaluación del medio cromógeno CHROMagar *Candida* TM para la identificación de levaduras de interés médico. Rev. Méd. Uruguay, 21(1): 186-193.

Cantón, E.; Viudes, A. y Pemán, J. 2001. Infección sistémica nosocomial por levaduras. Rev. Iberoam. Micol., 18(1): 51-55.

Cuéstara, M.; Alambra, A. y Del Palacio, A. 2006. Diagnóstico microbiológico tradicional de la candidosis invasora en el enfermo crítico no neuroterapéutico. Rev. Iberoam. Micol., 23(1): 4-7.

Eraso, E.; Sahand, I.; Villar, M.; Marcos, C.; Moragues, D. y Madariaga, L. 2006. Usefulness of *Candida* ID2 agar for the presumptive identification of *Candida dubliniensis*. Med. Mycol., 44(5): 611-615.

García, M.; García, A.; Hernández, M.; Marín, P.; Tallero, E.; Mora, J. 1998. Identificación de levaduras de interés clínico en el medio de cultivo CHROMagar *Candida*. Rev. Iberoam. Micol., 15(1): 131-135.

Guevara, M.; Urcia, F. y Casquero, J. 2007. Manual de procedimiento y técnicas de laboratorio para la Identificación de los principales Hongos oportunistas causantes de Micosis Humanas, Ministerio de Salud, Instituto Nacional de Salud.

Guisano, G.; Manguiaterra, M. 1998: Diferenciación e identificación presuntiva rápida de levaduras con medio CHROMagar *Candida*. Rev. Argentina Microbiol., 30(1): 100-103.

Higuerey, E. y Ortiz, F. 2011. Diferenciación fenotípica y molecular de *Candida dubliniensis* aisladas de pacientes con candidosis en diferentes centros de salud de Cumaná, estado Sucre. Trabajo de pregrado. Departamento de Bioanálisis. Universidad de Oriente, Cumaná.

Jabra, M.; Brenner, T. y Romagnoli, M. 2001. Evaluation of a reformulated CHROMagar *Candida*. J. Clin. Microbiol., 39(1): 2015-2016 .

Jiménez, R. 2000. Bioestadística. Métodos estadísticos descriptivos. Universidad de los Andes. Mérida. Venezuela.

Khelif, M.; Sellami, A.; Sellami, H.; Makni, F. y Ayadi, A. 2008. *Candida dubliniensis*, identification methods and epidemiologic implication. Pathol. Biol., 27(4): 320-336.

Koehler, A.; Chu, K.; Honang, E. y Chang, A. 1999. Simple, reliable, and cost-effective yeast identification scheme for the clinical laboratory. J. Clin. Microbiol., 37(1): 422-436.

Lasker, B.; Elie, C. y Lott, T. 2001. Molecular epidemiology of *Candida albicans* strains isolated from the oropharynx of VIH- positive patients at successive clinic visits. Med. Micol., 39(1): 341-352.

Letscher, V.; Meyer, M.; Galois, A.; Waller, J. y Candolfi, E. 2002. Prospective evaluation of the new chromogenic medium *Candida* ID, in comparison with Candiselect, for isolation of molds and isolation and presumptive identification of yeast species. J. Clin. Microbiol., 40:1508-1510.

Linares, C.; Giro, L.; Ramos, L.; Ramadan, S. y Bulacio, L. 2005. Comparación de diferentes métodos para la identificación de especies del género *Candida*. Rev. Argentina de Micol., 37(1):16-21.

Linares, M. y Solis, F. 2007. Identificación de levaduras. Rev. Iberoam. Micol., 11(1): 978-1018.

López, C.; Giro, L.; Ramos, L.; Ramadan, S. y Bulacio, L. 2005: Comparación de diferentes métodos para la identificación de especies del género *Candida*. Rev. Argentina Microbiol., 36(1): 18-21.

Mazziotta, D. y Fernández, C. 2005. Gestión de la calidad en el laboratorio clínico. Edición Médica Panamericana. Primera edición. Madrid, España.

Mendoza, M. y Díaz, E. 2001. Producción de Clamidosporas y micelio en levaduras empleando diversos medios de cultivos. Bol. Inf., 35(1): 15-16.

Mosca, C.; Moragues, M.; Brena, S.; Rosa, A. y Pontón, J. 2005. Aislamiento de *Candida dubliniensis* en un adolescente con estomatitis protésica. Med. Oral. Patol. Oral. Cir. Bucal., 10(1): 25-31.

Odds, F. y Bernaerts, R. 1994. CHROMagar*Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. J. Clin. Microbiol., 32(1): 1923-1929.

Pardi, G.; Cardozo, E.; Perrone, M. y Salazar, E. 2003. Detección de especies de *Candida* en casos de recidiva en pacientes con estomatitis sub-protésica, medicados con miconazol jalea oral. Act. Odont. Ven., 41(2): 108-119.

Perurena, M.; Fernández, C.; Martínez, G.; Mendoza, D. y Valdez, E. 2006. *Candida dubliniensis*: necesidad de establecer un diagnóstico correcto. Rev. Cub. Med. Trop., 58(3): 1561-3054.

Pincus, H.; Coleman, D.; Pruitt, A.; Padhye, A.; Salkin, L.; Geimer, M.; Bassel, A.; Sullivan, D.; Clarke, M. y Hearn, V. 1999. Rapid identification systems. J. Clin. Microbiol., 37(1): 3533-3539.

Pineda, G.; Scollo, K.; Santiso, G.; Lehmann, E. y Arechavala, A. 2008. Aislamiento de *Candida dubliniensis* en distintos materiales clínicos. Análisis de métodos fenotípicos de diferenciación con *Candida albicans*. Rev. Argent. Microbiol., 40(4): 2-3.

Pinjon, E.; Sullivan, D.; Salkin, I.; Shanley, D. y Coleman, D. 1998. Simple, inexpensive reliable method for differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. J. Clin. Microbiol., 36(1): 2093-2095.

Pinoni, M.; Castan, V.; Maegli, M.; Lorenzo, J.; Frizzera, F.; Jewtuchowicz, V. y Mujica, M. 2007. Características Fenotípicas útiles para la identificación presuntiva de *Candida guilliermondii*. Rev. Argentina Microbiol., 39(1): 81-83.

Quindós, G.; Alonso, R.; Helou, S., Arechavala, A.; Martín, E. y Negroni R. 2001. Evaluación micológica de un nuevo medio de cultivo cromógeno (*Candida ID®*) para el aislamiento e identificación presuntiva de *Candida albicans* y otras levaduras de interés médico. Rev. Iberoam. Micol., 18(1): 23-28.

Ruiz, J.; García, P.; Puerto, J.; Marín, P.; Saldarreaga, A. y Moya, P. 2003. Evaluación de un nuevo medio CHROMagar *Candida* para la identificación presuntiva de levaduras. Rev. Diagn. Biol., 52(1): 19-22.

Sanabria, R.; Samudio, M.; Farina, M.; Laspina, F.; Ortellado, J.; Arbizu, G.; Laconich, M. y Rodríguez, H. 2006. Identificación de especies de *Candida* aisladas de pacientes ambulatorios, hospitalizados, e inmunocomprometidos en Paraguay. Mem. Inst. Investing. Cienc. Salud, 4(2): 1812-1852.

San Millán, R.; Ribacoba, J.; Pontón, J. y Quindós, G. 1996: Evaluation of a commercial medium for identification of *Candida* species. Eur. J. Microbiol. Infect. Dis., 15(1): 153-158.

Schoofs, A.; Odds, F.; Colebunders, R.; Leren, M. yGoossens, H. 1997. Use of specialized isolation media for recognition and identification of *Candida dubliniensis* from HIV-infected patients. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 16(1): 296-300.

Senet, J. 1997. Risk factors and physiopathology of candidiasis. Rev. Iberoam. Micol., 14(1): 3-6.

Sullivan, D.; Coleman, D.; Bennet, D.; Moran, G.; Barry, H. y Shanley, D. 1997. Candidiasis: the emergence of novel species, *Candida dubliniensis*. AIDS., 11(1): 557-567.

Sullivan, D. y Coleman, D. 1998. *Candida dubliniensis*: characteristics and identification. J. Clin. Microbiol., 36(1): 329-334.

Willinger, B.; Hillowoth, C.; Selitsch, B. y Manafi, M. 2001. Performance of *Candida* ID, a new chromogenic medium for presumptive identification of *Candida* species, in comparison to CHROMagar *Candida*. J. Clin. Microbiol., 39(1): 3793-3795.

Wingard, J.; Merz, W.; Rinaldi, M.; Johnson, T.; Karp, J. y Saral, R. 1991. Increase in *Candida krusei* infection among patients with bone marrow transplantation and neutropenia treated prophylactically with fluconazole. N. Engl. J. Med., 325(1): 1274-1277.

HOJAS DE METADATOS

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 1/6

Título	UTILIDAD DE LAS GALERIAS API-20C AUX y CHROagar <i>Candida</i> PARA LA IDENTIFICACIÓN DE <i>Candida dubliniensis</i>
Subtítulo	

Autor(es)

Apellidos y Nombres	Código CVLAC / e-mail	
Dasilva Sanzon, Pedro José	CVLAC	17047965
	e-mail	Pedrodasilva0110@hotmail.com
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	
	CVLAC	
	e-mail	
	e-mail	

Palabras o frases claves:

<i>Candida albicans, Candida dubliniensis, sistema API 20C AUX.</i>

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 2/6

Líneas y sublíneas de investigación:

Área	Subárea
Escuela de Ciencias	Departamento de Bioanálisis

Resumen (abstract):

Para evaluar la capacidad del CHROMagar *Candida* y el sistema API-20C AUX, para la identificación de *Candida dubliniensis*, se emplearon 6 aislamientos de *Candida dubliniensis* y 27 de *Candida albicans*. Las cepas fueron sembradas en el medio CHROMagar *Candida* e incubadas a diferentes temperaturas (28, 35, 37 y 39°C) durante 24, 48 y 72 horas. Igualmente, fueron identificadas utilizando el sistema API 20C AUX siguiendo las instrucciones del fabricante. Las variaciones de color observadas en la comparación de las colonias de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis* fueron mínimas. Se pudo observar un cambio en la intensidad del color verde en la detección de *Candida dubliniensis* (oscuro) en relación con *Candida albicans*, que conservó su coloración característica de verde esmeralda en la mayoría de sus cepas. El cambio de coloración se intensificó después de las 24 horas de incubación y a temperaturas mayores de 28°C; sin embargo, no ocurrió así en todas las cepas. La asimilación de xilosa (XYL), trehalosa (TRE) y metil- α Dglucopiranosido (MDG), pruebas contenidas en el sistema API 20C AUX, fueron negativas para todos los aislamientos de *Candida dubliniensis* y fueron positivas para 18 (XYL), 15 (MDG) y 23 (TRE) de las 27 cepas de *Candida albicans*. Los laboratorios de microbiología clínica podrían utilizar el desarrollo de las colonias en CHROMagar *Candida*, a 37°C durante 24 horas de incubación, y una prueba negativa de XYL y TRE, con el sistema de identificación de levaduras API 20C AUX, para proporcionar una identificación presuntiva de *Candida dubliniensis*. Un resultado negativo en la prueba de MDG también sería útil, pero puede

clasificar erróneamente *Candida albicans* como *Candida dubliniensis*, cuando se utiliza con el sistema API 20C AUX.

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 3/6

Contribuidores:

Apellidos y Nombres	ROL / Código CVLAC / e-mail	
Parra Evis	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input checked="" type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	10947424
	e-mail	eviespin@hotmail.com
	e-mail	
Díaz Josefa	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	c
	e-mail	josefadiaz@hotmail.com
	e-mail	
Salazar Luz	ROL	C <input type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> T <input type="checkbox"/> J <input checked="" type="checkbox"/> A <input type="checkbox"/> S <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/> U <input type="checkbox"/>
	CVLAC	13630199
	e-mail	Luz31salazar@gmail.com
	e-mail	

Fecha de discusión y aprobación:

Año Mes Día

Colocar fecha de discusión y aprobación:

2018	07	23
------	----	----

Lenguaje: SPA _____

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 4/6

Archivo(s):

Nombre de archivo	Tipo MIME
Tesis-dasilvap.doc	Application/word

Alcance:

Espacial:

Temporal:

Título o Grado asociado con el trabajo: Licenciado en Bioanálisis

Nivel Asociado con el Trabajo: Licenciado.

Área de Estudio: Bioanálisis

Institución(es) que garantiza(n) el Título o grado: Universidad de Oriente

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso – 5/6



UNIVERSIDAD DE ORIENTE
CONSEJO UNIVERSITARIO
RECTORADO

CUN°0975

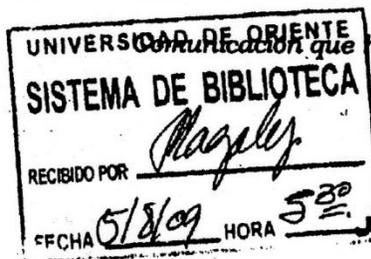
Cumaná, 04 AGO 2009

Ciudadano
Prof. JESÚS MARTÍNEZ YÉPEZ
Vicerrector Académico
Universidad de Oriente
Su Despacho

Estimado Profesor Martínez:

Cumplo en notificarle que el Consejo Universitario, en Reunión Ordinaria celebrada en Centro de Convenciones de Cantaura, los días 28 y 29 de julio de 2009, conoció el punto de agenda **"SOLICITUD DE AUTORIZACIÓN PARA PUBLICAR TODA LA PRODUCCIÓN INTELECTUAL DE LA UNIVERSIDAD DE ORIENTE EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UDO, SEGÚN VRAC N° 696/2009"**.

Leído el oficio SIBI – 139/2009 de fecha 09-07-2009, suscrita por el Dr. Abul K. Bashirullah, Director de Bibliotecas, este Cuerpo Colegiado decidió, por unanimidad, autorizar la publicación de toda la producción intelectual de la Universidad de Oriente en el Repositorio en cuestión.



Comunicación que hago a usted a los fines consiguientes.

Cordialmente,

JUAN A. BOLANOS CUNPELO
Secretario



C.C: Rectora, Vicerrectora Administrativa, Decanos de los Núcleos, Coordinador General de Administración, Director de Personal, Dirección de Finanzas, Dirección de Presupuesto, Contraloría Interna, Consultoría Jurídica, Director de Bibliotecas, Dirección de Publicaciones, Dirección de Computación, Coordinación de Teleinformática, Coordinación General de Postgrado.

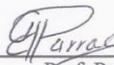
JABC/YGC/manuja

Hoja de Metadatos para Tesis y Trabajos de Ascenso- 6/6

Artículo 41 del REGLAMENTO DE TRABAJO DE PREGRADO (vigente a partir del II Semestre 2009, según comunicación CU-034-2009) : “los Trabajos de Grado son de la exclusiva propiedad de la Universidad de Oriente, y sólo podrán ser utilizados para otros fines con el consentimiento del Consejo de Núcleo respectivo, quien deberá participarlo previamente al Consejo Universitario para su autorización”.



Dasilva Pedro



Prof. Parra Evis
Asesor