

Especies de Candida sp. como Agente Etiológico de Infecciones Oportunistas en Diabéticos

Vita Calzolaio,^{1, 4} Amarily Perelli,^{2, 3} Emy González,⁴ Rosalina González⁴

1Departamento Ciencias Morfológicas y Forenses de la Universidad de Carabobo (UC). Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas.

2Departamento de Formación Integral del Hombre. Facultad de Odontología (UC).

3Unidad de Morfopatología (Unimpa). Facultad de Odontología. UC.

4Laboratorio de Investigación y Postgrado de la Escuela de Bioanálisis, sede Valencia. UC. Venezuela

Correspondencia: vitacalzolaio@yahoo.com

Resumen *La Candida sp. es una levadura comensal que reside en las mucosas de las cavidades oral, vaginal y el tracto gastrointestinal de los humanos; ocasiona complicaciones en pacientes inmunosuprimidos o con diabetes mellitus. El objetivo del estudio fue determinar distintas especies de Candida sp. en secreciones vaginales, como agente etiológico de infecciones oportunistas en 180 pacientes diabéticos que asistieron a consulta en un centro de salud público en el período 2010-2011. Las muestras fueron cultivadas en Agar Sabouraud Dextrosa (SDA) con cloranfenicol. Para identificar las especies de levaduras se utilizaron las pruebas de tubo germinativo, formación de clamidosporas y API 20C. Del total de las muestras 82 (45,6%) crecieron en el agar y de estas muestras positivas, 36,6% correspondieron a Candida albicans, 34,1% a Candida glabrata y 29,3% a Candida tropicalis. Se logró un diagnóstico confirmatorio de candidiasis en 45,6% de los casos, con predominancia de las especies de Candida no albicans (63,4%) en las secreciones estudiadas, por lo que su tipificación rutinaria debería hacerse de manera frecuente.*

PALABRAS CLAVE *Candidiasis, Diabetes mellitus, Infecciones oportunistas.*

Abstract *CANDIDA SP. AS ETIOLOGIC AGENTS OF OPORTUNISTIC INFECTIONS IN DIABETIC PATIENTS*

Candida sp. are commensal yeasts living in the mucous membranes of the oral cavity, vagina and gastrointestinal tract of humans, causing compli*Candida species* in vaginal secretions as the etiologic agent of opportunistic infections in 180 diabetic patients attending consultation at a public health center during years *Candida albicans Candida glabrata Candida tropicalis Candida species Candida sp. and its typing should be frequently done in patients with diabetes or immunocompromised.*

KEY WORDS Candidiasis, Diabetes Mellitus, Opportunistic Infections.

Introducción La *Candida sp.* es una levadura comensal que reside como huésped saprófito en las membranas mucosas de las cavidades oral y vaginal, así como en el tracto gastrointestinal de los humanos; esta levadura normalmente es inofensiva en el hospedador sano, pero su patogenicidad aumenta en un hospedador inmunocomprometido.

Ciertas condiciones fisiológicas como el embarazo, la edad avanzada y la lactancia, así como algunas afecciones y ciertos tratamientos entre los cuales se puede mencionar la maceración, quemaduras, inmunodeficiencia, SIDA, diabetes mellitus, antibióticos y píldoras anticonceptivas, causan alteraciones inmunológicas que pueden ocasionar el crecimiento del hongo. Aunque la invasión inicial depende de los mecanismos inmunes del hospedador, la *Candida sp* posee características intrínsecas que promueven su habilidad de causar enfermedad. ¹ La *Candida albicans* y otras especies del género son capaces de adherirse a la membrana de las células epiteliales por medio de una interacción de ligando-receptor específica. Especialmente a las células mucosas bucales, vaginales y gastrointestinales, a los corneocitos, a las células endoteliales vasculares, matrices de fibrina y plaquetas, es por ello, que esta adherencia a las células del huésped y la penetración se asocian con la patogenicidad. Es importante resaltar que estas levaduras también se adhieren a las superficies de materiales plásticos, lo que facilita su fijación a los catéteres y prótesis. ² Como la *Candida albicans* es un habitante regular de las superficies mucosas, la enfermedad implica un cambio en el microorganismo, en el huésped o en ambos. El cambio de la forma de levadura a la de hifa tiene una relación importante con el aumento del potencial patógeno de la *Candida albicans*, la invasión se relaciona entonces con dicho cambio. Las hifas producen proteinasas y fosfolipasas que pueden digerir las células epiteliales y tal vez facilitar así la invasión. ³ Además de esto, la *Candida albicans* tiene receptores proteicos de superficie que se unen con el componente C3 del complemento en forma similar a la de los receptores presentes en los neutrófilos. Por tanto, el C3 unido a la superficie de la levadura *C albicans*, mediante receptores, está orientado

de manera que es inaccesible a la opsonización.⁴⁻⁶ En efecto, las infecciones micóticas producidas por las levaduras del género *Candida*, son complicaciones importantes en pacientes inmunosuprimidos, debido a la incapacidad del sistema inmune del individuo para limitar el proceso infeccioso, de los factores de virulencia del hongo y de las condiciones del microambiente en que se efectúa la interacción hospedador-parásito; tanto, que las tasas de morbilidad y mortalidad de estas infecciones se han incrementado considerablemente durante las últimas dos décadas.⁷ Ahora bien, la diabetes es un importante problema de salud con elevada morbimortalidad. Varios estudios apoyan la idea de una mayor susceptibilidad y frecuencia para las infecciones bacterianas, mientras que otros hacen hincapié en la mayor gravedad de las infecciones por organismos como los hongos. El mal control metabólico es el responsable de que los pacientes diabéticos presenten más infecciones micóticas que el resto de la población.⁷ Aun cuando las manifestaciones clínicas en las micosis son de gran utilidad para el diagnóstico de estas afecciones, es necesario establecer un diagnóstico específico que oriente al tratamiento indicado, realizando una tipificación para identificar las distintas especies de hongos productores de micosis en pacientes diabéticos. La presente investigación tuvo como objetivo determinar las distintas especies de *Candida* sp. en secreciones vaginales como agente etiológico de infecciones oportunistas en diabéticos que asistieron a la consulta de un centro de salud público en el período 2010-2011.

Pacientes y Métodos La presente investigación se basó en un estudio de tipo descriptivo; la muestra estuvo conformada por 180 pacientes diabéticos que asistieron a una consulta especializada de diabetes mellitus de un centro de salud público, durante 2010- 2011, utilizando como criterios de inclusión aquellos pacientes que presentaron secreciones vaginales y que no estuvieran recibiendo tratamiento, por lo que el muestreo fue no probabilístico intencional. A los pacientes que accedieron formar parte del estudio se les solicitó el consentimiento informado para que de manera escrita, manifestaran su voluntad de participar en la investigación. Una vez obtenido el consentimiento se tomó la muestra de las secreciones vaginales, por medio de hisopados utilizando Culturette®. Luego las muestras fueron llevadas al Departamento de Micología de la Universidad de Carabobo, donde se realizó un extendido para posterior coloración de Gram y observación al microscopio a fin de detectar la presencia o ausencia de levaduras. Después se procedió a sembrar las muestras en Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) con cloranfenicol, incubándolas durante un periodo de 24-48 horas a 37 °C. Transcurrido este tiempo, a los cultivos que resultaron

positivos para la presencia de levaduras se les realizó la prueba del tubo germinativo, una prueba específica para *Candida albicans*; se observó el resultado a las dos horas. Pasado este tiempo otras especies, como *Candida tropicalis*, pueden producir pseudohifas precoces de aspecto similar a tubos germinales, pero con una zona de constricción característica adyacente a la célula madre, por lo que esta prueba es útil para diferenciar a la *Candida albicans* del resto de las especies de *Candida*, aunque no está exenta de falsos negativos. ⁸

Prueba del tubo germinativo Consiste en colocar en un tubo de ensayo 0,5 mL de suero humano y una pequeña porción de la colonia a estudiar, se incuba a 37 °C en baño María, por 2 horas. Transcurrido este tiempo, se procede a colocar en una lámina portaobjeto una gota de la muestra, se cubre con laminilla cubreobjeto y se observa al microscopio con objetivo 10x y 40x. Se determina la elongación que puede experimentar la blastoconidia. Este crecimiento o formación de una prolongación tubular que se extiende 3-4 veces más que la blastoconidia que la originó es sugestiva de *Candida albicans*. ⁹

Formación de clamidosporas, se siembra una parte de la colonia en el medio Bilis-Agar o Agar Harina de Maíz con aguja de inoculación esterilizada, incubando el medio a 28 °C por 48 a 72 horas en condiciones de aerobiosis. Se observa microscópicamente la formación de esporas asexuales, de paredes gruesas y refringentes, llamadas clamidosporas, que pueden estar intercaladas o en posición terminal de las hifas tabicadas o septadas. ⁹ Posteriormente se utilizó el API 20C AUX, constituido por veinte cúpulas con sustratos deshidratados (carbohidratos) que permite efectuar diecinueve pruebas de asimilación. Las cúpulas son inoculadas con 100 uL de una suspensión de la levadura a estudiar, preparada con NaCl al 0,85% y a una concentración equivalente al patrón N° 2 Mc Farland. Se incuba a 25°C por 48 a 72 horas. Se verifica la positividad o negatividad de las cúpulas, según la capacidad de utilizar por vía oxidativa el sustrato. La lectura de la prueba genera un código numérico que se compara con un catálogo analítico, que a su vez determina el género y la especie de la levadura.

Resultados **D**e las 180 muestras analizadas de pacientes diabéticos que presentaron secreciones vaginales, solo 82 muestras (45,6%) crecieron en Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) con Cloranfenicol; en las 98 muestras restantes (54,4%) no hubo crecimiento en el Agar, lo que hace pensar que las secreciones obtenidas de estos pacientes estén siendo causadas por bacterias u otros gérmenes y no por levaduras. De las 82 muestras que crecieron en SDA con cloranfenicol obtenidas de pacientes diabéticos con secreciones vaginales, 30 (36,6%) (Tabla 1) presentaron producción de

clamidosporas y tubo germinativo, corroborando así que se trataba de *Candida albicans*; 52 (63,4%) fueron negativas para la producción tanto de tubo germinativo como de clamidosporas, indicando presencia de otras especies de levaduras. En el estudio de identificación por el método API 20C AUX, de las 82 muestras positivas para levaduras se tipificaron 30 (36,6%) como *Candida albicans*, 28 (34,1%) como *Candida glabrata*, y 24 (29,3%) como *Candida tropicalis* (Tabla 2).

Discusión En la muestra estudiada, el porcentaje encontrado de pacientes diabéticos que presentaron secreciones vaginales por hongos fue casi la mitad. Es necesario conocer la epidemiología de las infecciones, razón por la cual, es indispensable la identificación correcta y oportuna de las levaduras, con la finalidad de establecer una terapéutica acertada. Sin embargo, la condición de diabetes no indica necesariamente que sea sinónimo de presencia de *Candida* como levadura oportunista. Los resultados pueden estar influenciados por el buen control metabólico proporcionado a los pacientes que asisten a una consulta especializada, como bien indicó Marchena ¹⁰ en 2007, al hacer énfasis en que el mal control metabólico es el responsable de que los pacientes diabéticos presenten más infecciones micóticas que el resto de la población. Del porcentaje de muestras positivas para levaduras obtenidas de pacientes diabéticos con secreciones, menos de la mitad presentaron producción de clamidosporas y positividad en tubo germinativo, corroborando así que se trataba de *Candida albicans*, el resto de las muestras evaluadas correspondió a *Candida* no *albicans*. Estos datos son similares a los reportados por Sandoval y cols ¹¹ quienes obtuvieron crecimiento de levaduras en cultivos de secreciones vaginales de pacientes diabéticos, pertenecientes todas al género *Candida* reportando un porcentaje de 46% de *Candida* sp. Al realizar el estudio de identificación por el método API 20C AUX, los resultados son definitivos en la identificación de las especies de *Candida*, según la asimilación de carbohidratos, y tiene la capacidad de distinguir todos los tipos de especies de *Candida* existentes. De las 82 muestras positivas para levaduras, se logró tipificar las especies *Candida albicans*, *Candida glabrata* y *Candida tropicalis* (Tabla 2). Estos resultados tienen cierta similitud con los hallados por Mujica y cols ¹² durante los años 1999 y 2001, estudiaron 1.006 aislamientos provenientes de una amplia gama de muestras clínicas, obteniendo como resultado *Candida albicans* en 40,3% de los exámenes, la especie con mayor frecuencia de aislamiento. Pero las especies de *Candida* no *albicans*, en un porcentaje de 54,9%, resultaron de mayor prevalencia, lo que llama la atención sobre su importancia en las lesiones encontradas; 4,8% correspondió a otras levaduras. Estos hallazgos alertan acerca del valor que tiene el proceso de aislamiento e identificación a nivel de

género y especie, ya que permite enriquecer, de manera más precisa los datos sobre la casuística y epidemiología de las micosis causadas por levaduras, principalmente en grupos de mayor susceptibilidad.¹³ En Conclusión, de 180 pacientes diabéticos, casi la mitad resultó positivo para las especies *Candida* sp. De los pacientes positivos para *Candida* sp, menos de la mitad resultó positivo para *Candida albicans* y el mayor porcentaje estuvo representado por *Candida* no *albicans*. Al utilizar el método API 20C AUX, se identificaron las especies *Candida albicans*, *Candida glabrata* y *Candida tropicalis*, siendo el porcentaje para *Candida albicans* ligeramente mayor al porcentaje reportado respecto a las otras dos especies. Se logró un diagnóstico confirmatorio de candidiasis con predominio de las especies de *Candida* no *albicans* en las secreciones vaginales estudiadas, por lo que su tipificación rutinaria debería hacerse de manera frecuente para el correcto tratamiento del paciente.

Tabla 1

DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LAS MUESTRAS POSITIVAS EN SABOURAUD DEXTROSA AGAR (SDA) CON CLORANFENICOL SEGÚN SU PRODUCCIÓN DE TUBO GERMINATIVO Y CLAMIDOSPORAS		
Resultado	TG (n: 82)	Cla (n:82)
Positivo	30 (36,6%)	30 (36,6%)
Negativo	52 (63,4%)	52 (63,4%)

TG: tubo germinativo

Cla: Clamidosporas en agar harina de maíz

Tabla 2

DISTRIBUCIÓN PORCENTUAL DE LAS ESPECIES DE CANDIDA AISLADAS EN SECRECIONES VAGINALES DE PACIENTES DIABÉTICOS, OBTENIDAS POR EL MÉTODO API 20C AUX

Especies aisladas	Cantidad	Porcentaje (%)
<i>Candida albicans</i>	30	36,6
<i>Candida glabrata</i>	28	34,1
<i>Candida tropicalis</i>	24	29,3
Total	82	100

Referencias

1. Panizo M, Reviákina V. *Candida albicans* y su efecto patógeno sobre las mucosas. Rev Soc Ven Microbiol 2001;21:38-45.
2. Joklik W, Zinsser H, Willet H, Amos D. Microbiología médica. 20ª Edición. Editorial Médica Panamericana.1994.
3. Ellis D. *Candida*. The University of Adelaide. Mycology Online. 2008.
4. Rayn K, Ray C. Microbiología Médica, una introducción a las enfermedades infecciosas. 4ta edición. Editorial Mc Graw Hill. 2005.
5. Vargas H. Patógenos emergentes en micosis cutáneas y sistémicas. Dermatología venezolana 2004;42:4-14.
6. Pereyra N. Candidiasis o Moniliasis. La Mujer y la Pareja, Obstetricia Personalizada. 2007. [Citado:10 de octubre de 2008]. Disponible: <http://www.lamujerylapareja.com.ar/candidiasis%20%20moniliasis.htm>
7. Caballero E, Boza R, González K. Candidiasis sistémica: experiencia en el Hospital San Juan de Dios 1996-1998. Rev Costarric Cienc Méd 1999;20:153-165.
8. Koneman E. Diagnóstico microbiológico, texto y atlas color.5ta Edición. Editorial médica. 1999.
9. Scott B. Diagnóstico Microbiológico. 11ava. Edición Buenos Aires-Argentina. Editorial Médica Panamericana. 2004.
10. Marchena H, Reyes I. Candidiasis y diabetes mellitus. Ver Electr Portales Med 2007;8:113-115.
11. Sandoval N, Arenas R, Fernández R. Determinación de *Candida sp.* en la orofaringe de pacientes con diabetes mellitus tipo 1. Identificación mediante métodos colorimétricos rápidos (CROMagar y Vitek). Rev Mex Dermatol 2002;52:12-16.
12. Mujica M, Finkelievich J, Jewtuchowicz V y Iovannitti C. Prevalencia de *Candida albicans* y *Candida no albicans* en diferentes muestras clínicas: Período 1999-2001. Rev Argent Microbiol 2004;36:107-112.
13. Mendoza M. Importancia de la identificación de levaduras. Rev Soc Ven Microbiol 2005;25:15-23.