



Identificación de especies de levaduras del género *Candida* provenientes de pacientes con vulvovaginitis

María Antonia De la Parte ¹.

Mireya Mendoza ².

Ana Brito ³.

¹Escuela de Medicina "José María Vargas", Universidad Central de Venezuela
delaparte@cantv.net

²Departamento de Micología, Instituto de Biomedicina, Caracas, Venezuela.

³Escuela de Medicina "José María Vargas", Universidad Central de Venezuela.

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina -
Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 05 de Abril del 2006 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

La candidiasis vaginal es una micosis de distribución mundial producida por levaduras del género *Candida*, la cual pertenece a la flora normal de la vagina. La vulvovaginitis constituye una de las primeras afecciones ginecológica y su causa más frecuente es la candidosis. *Candida albicans* ha sido considerado el agente más importante de esta patología; sin embargo, estudios más recientes revelan un incremento en la incidencia de otras especies del género. Algunas especies "no albicans" tienen la particularidad de presentar resistencia a los tratamientos usuales con antimicóticos, por lo que se hace necesario llegar al diagnóstico de especie para instalar tratamiento específico. El objetivo de este estudio fue identificar las especies de levaduras del

género *Candida* asociadas a vulvovaginitis en pacientes provenientes de centros clínicos de Caracas, durante el período comprendido entre Junio de 2004 a Mayo de 2005, para determinar la frecuencia de las distintas especies del género involucradas en la etiología de la vulvovaginitis en nuestro medio. Se estudiaron 60 muestras obtenidas del fondo de saco y paredes vaginales; a cada muestra se le realizó examen al fresco con KOH al 10% y cultivo en medio de Agar Sabouraud con antibiótico. Para identificación de especie se realizaron las pruebas de tubo germinal, formación de clamidosporas en caldo harina de trigo-Tween 80, observación del color de las colonias en CHROMagar *Candida*, morfología en corn-meal y asimilación de azúcares. Entre las especies de *Candida*, *C. albicans* fue la más frecuentemente aislada 84%: n=50); *C. tropicalis* representó el 8% (n=5), *C. glabrata* el 3% (n=2) y *C. guilliermondii* 5% (n=3). Nuestros resultados son similares a los reportados por otros autores nacionales e internacionales por lo que concluimos que *C. albicans* es la especie aislada con mayor frecuencia en esta patología, sin embargo, las especies "no *albicans*" se aíslan cada día con mayor frecuencia y es por ello que se hace necesario llegar hasta la identificación de especie en todos los casos del diagnóstico microbiológico de la vulvovaginitis por *Candida* y realizar de rutina las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos de uso frecuente a estos aislados de levaduras.

PALABRAS CLAVE: *Candida*, vulvovaginitis, no *albicans*, candidiasis

INTRODUCCIÓN

Las levaduras del género *Candida* son hongos dimorfos de distribución universal que forman parte de la flora residente de la boca, tracto digestivo y genital femenino de sujetos sanos. Bajo algunas condiciones, por razones a veces bien establecidas y en otros casos no bien conocidas, pudieran ser responsables de patologías de alto riesgo y en ocasiones fatales. Pueden producir lesiones en piel, uñas, cavidad oral, bronquios, pulmones y alcanzar todos los órganos y sistemas mediante la diseminación sanguínea de la levadura, lo que se denomina fungemia o candidemia [1,2]. *El aumento de las infecciones causadas por levaduras es un fenómeno creciente a nivel mundial y Venezuela no escapa a esta problemática* [3-5].

Ejemplos de patologías frecuentes en el hospedador inmunocompetente son: vulvovaginitis, candidiasis oral, conjuntivitis, dermatitis del área del pañal, paroniquias e intertrigo. En el sujeto inmunocomprometido es frecuente la esofagitis y se pueden presentar miocarditis, abscesos hepato-esplénicos, infecciones pulmonares, infecciones del sistema nervioso central (SNC), endoftalmítis e incluso formas crónicas de la enfermedad [1]. Se reporta que el 75% de la población femenina presentará por lo menos un episodio de vulvovaginitis por *Candida* en su vida y entre el 40 y 50% de éstas tendrán episodios recurrentes; se describe también el aumento de la incidencia de candidosis vaginal [4-6].

La vulvovaginitis constituye una de las primeras afecciones ginecológica y su causa más frecuente es la candidosis [7]. *Candida albicans* ha sido considerado el agente más importante de esta patología; sin embargo, estudios más recientes revelan un incremento en la incidencia de otras especies del género [8]. Algunas especies "no *albicans*" tienen la particularidad de presentar resistencia a los tratamientos usuales con antimicóticos, por lo que se hace necesario llegar al diagnóstico de especie para instalar tratamiento específico. Está bien establecido que *C. krusei* presenta resistencia natural a fluconazol y para otras especies como *C. glabrata* y *C. tropicalis* ha sido reportada resistencia importante a la mayoría de los imidazoles. [3,9].

La identificación de *C. albicans* tradicionalmente se realiza mediante la técnica de tubo germinativo, una prueba simple, rápida y económica que permite la identificación en 2 a 3 horas. El problema que surge con esta prueba es que entre un 5 y 10% de los aislamientos de *C. albicans* no producen tubo germinativo, además de darse falsos positivos en otras especies del género como *C. tropicalis* y *C. parapsilosis* que producen estructuras semejantes a un tubo germinativo [10,11]. Así, para identificar los aislados falsos positivos y falsos negativos, se deben utilizar además pruebas complementarias como la producción de clamidosporas [3,8], el uso de medios cromogénicos [5,11], la asimilación de azúcares [10,12,13] y en aislados dudosos se hace necesario utilizar la genotipificación.

El objetivo del presente estudio fue identificar las especies de levaduras del género *Candida* asociadas a vulvovaginitis en pacientes provenientes de centros clínicos de Caracas, durante el período comprendido entre Junio de 2004 a Mayo de 2005, para determinar la frecuencia de las distintas especies del género involucradas en la etiología de la vulvovaginitis en nuestro medio.

MÉTODOS

Se estudiaron 60 pacientes con edades comprendidas entre 15 y 45 años, quienes asistieron a diferentes centros clínicos del área metropolitana de Caracas con sintomatología de vulvovaginitis. Fueron criterios de exclusión: tratamiento con antimicóticos tópicos o sistémicos durante las últimas 4 semanas, duchas vaginales y relaciones sexuales durante las 72 horas previas a la toma de la muestra. A cada paciente se le realizó historia clínica y se procedió a la toma de muestras con hisopos estériles de las secreciones del fondo de saco y paredes vaginales. Cada muestra fue estudiada mediante examen al fresco con solución de KOH al 10% y sembrada en dos tubos con medio de agar Sabouraud dextrosa con antibiótico.

Las levaduras aisladas en el cultivo fueron identificadas en el laboratorio de Micología del Instituto de Biomedicina a través de estudios morfológicos y bioquímicos con técnicas convencionales [10,14]. *Candida albicans* se identificó mediante las siguientes pruebas: formación de tubo germinal, producción de clamidosporas, crecimiento y color de las colonias en el medio CHROMagar *Candida* (CHROMagar, Microbiology, Francia), prueba de la ureasa, auxonograma para la asimilación de carbohidratos y crecimiento a 42°C. Para la identificación de especies del género *Candida* distintas a *C. albicans*, además de las pruebas anteriormente mencionadas, se realizaron siembras en corn-meal-Tween 80, para inducir la formación de hifas y pseudohifas [3, 8, 10, 12, 13].

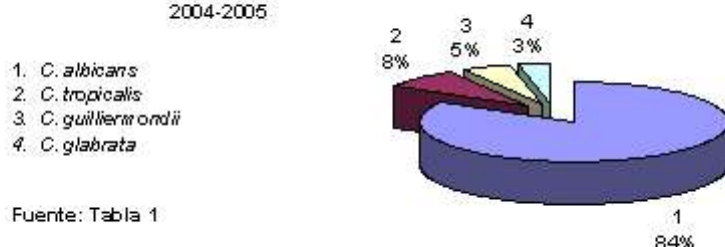
RESULTADOS

De las 60 muestras estudiadas procedentes de pacientes con clínica de vulvovaginitis, *C. albicans* fue la especie más aislada con el 84% (n=50) y las especies ?no *albicans*? representaron el 16%, de las cuales la siguiente en frecuencia fue *C tropicalis* con el 8% (n=5), *C. guilliermondii* con un 5% (n=3) y *C. glabrata* con el 3% (n=2). (Tabla 1, Gráfico 1).

Tabla 1
Distribución de especies de <i>Candida spp.</i> en muestras de pacientes con vulvovaginitis.

Caracas, Venezuela. 2004-2005		
Especie	No. de Aislados	Porcentaje
<i>Candida albicans</i>	50	84
<i>Candida tropicalis</i>	5	8
<i>Candida guilliermondii</i>	3	5
<i>Candida glabrata</i>	2	3
Total	60	100
Fuente: Historia clínica		

Gráfico 1.- Distribución de *Candida* spp. en pacientes con vulvovaginitis. Caracas, Venezuela. 2004-2005



El 90% (n=45) de los aislados de *Candida albicans* produjeron clamidosporas (Figura 1), el 94% (n=47) fueron productores de tubo germinal (Figura 2), el 100% creció a 42° C y todos dieron negativa la prueba de la ureasa (Tabla 2).



Figura 1

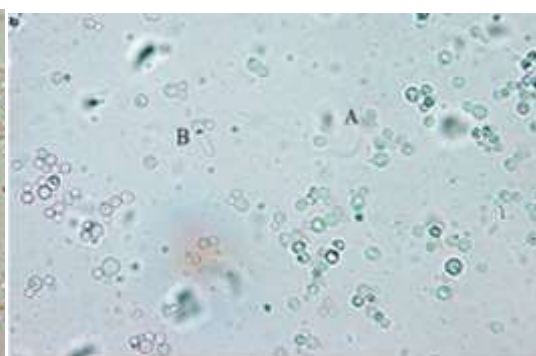


Figura 2

Tabla 2		
Pruebas convencionales de identificación de <i>Candida albicans</i> en muestras de pacientes con vulvovaginitis. Caracas, Venezuela. 2004-2005.		
	Aislados	Totales

Prueba	Positivo		Negativo			
	No.	%	No.	%	No.	%
Formación de clamidosporas	45	90	5	10	50	100
Producción de tubo germinal	47	94	3	6	50	100
Crecimiento a 42°C	50	100	0	0	50	100
Prueba de ureasa	0	0	50	100	50	100
Fuente: Historia clínica						

En el cultivo en medio de CHROMagar *Candida* se apreció que las colonias de *C. albicans* presentaron un color verde claro, aquellas de *C. tropicales* y *C. glabrata* fueron de color morado claro y las de *C. guilliermondii* mostraron color blanco (Figura 3).



Figura 3

Al analizar los datos obtenidos en las pruebas convencionales para la identificación de *C. albicans*, apreciamos que la producción de clamidosporas fue positiva en el 90% de los aislados y la de tubo germinal en el 94% siendo negativa en el 10 y 6% respectivamente, lo cual ha sido reportado en la literatura [10]. Con respecto al color de las colonias en el medio cromogénico (CHROMagar *Candida*) observamos que todos los aislados de *C. albicans* presentaron un color verde claro, lo cual coincide con los resultados de otros autores donde la sensibilidad y especificidad de este medio es de un 100% para *C. albicans* [15], mientras que las otras especies produjeron un color variable entre blanco y morado claro (Figura 3). La identificación de las levaduras *no albicans* se complementó con el patrón de asimilación de azúcares correspondiente para cada especie (Figura 4) y las características morfológicas de su crecimiento en el medio de *corn meal Tween 80* [10,12,14].

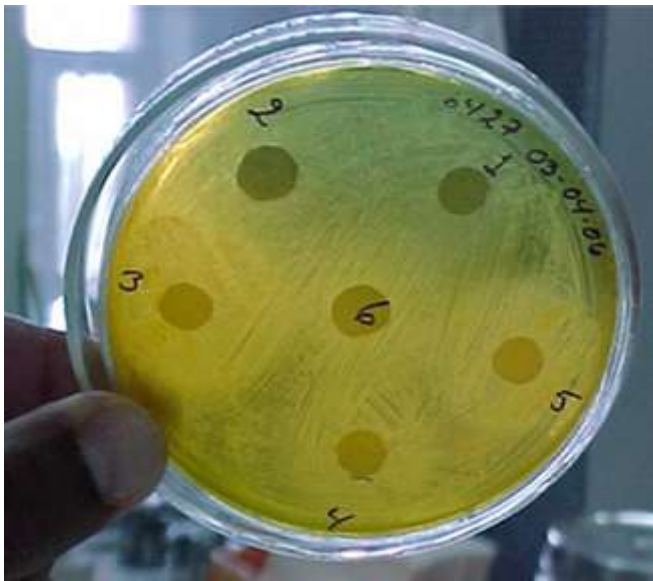


Figura 4

Candida albicans fue la levadura identificada con mayor frecuencia en nuestro estudio, con un 84%, lo cual coincide con diferentes autores quienes reportan entre 50 y 90% [8,16-22].sin embargo, las especies ?no albicans? como *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii* así como *C. krusei*, entre otras, también están involucradas aunque en menor proporción [8,9]. Es importante considerar la necesidad de identificar las diferentes especies de *Candida* causantes de vulvovaginitis ya que éstas muestran resistencias variables a los antifúngicos azólicos [3, 9, 23, 24].

Los resultados de este trabajo nos permiten concluir que *Candida albicans* es la especie aislada con mayor frecuencia en la vulvovaginitis, sin embargo las especies ?no albicans? se aíslan cada día con mayor frecuencia. Es por ello que se hace necesario llegar hasta la identificación de especie en todos los casos del diagnóstico microbiológico de la vulvovaginitis por *Candida* y realizar de rutina las pruebas de sensibilidad de estas levaduras a los antifúngicos de uso frecuente.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rippon JW. Tratado de Micología Médica. 3a.ed. México:Interamericana. McGraw Hill; 1990. p. 574-628.
2. Kenneth J. R. *Candida*, Aspergillus y otros hongos oportunistas. In: Kenneth J. Ryan, MD, C. George Ray, MD. *Sherris Microbiología Médica*. 4a.ed. México: MacGraw -Hill Interamericana; 2005, p.725-31.
3. Mendoza, M. Importancia de la identificación de levaduras. *Rev Soc Venez Microbiol* 2005; 25(1):13-21.
4. Ferrer J. Vaginal candidosis: epidemiological and etiological factors. *Int J Gynecol Obstet* 2000; 71:S21-7
5. Odds FC, Bernaerts R. CHROMagar *Candida*, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. *J Clin Microbiol* 1994; 32:1923-9

6. Denning DW, and the Working Group of the British Society for Medical Mycology. Management of genital *candidiasis*. BMJ 1995; 310:1241-4
7. Rivero M, Díaz, Centeno S. Frecuencia de especies de *Candida* aisladas en pacientes embarazadas con vulvovaginitis. Rev Soc Venez Microbiol 2003; 23(2):148-52.
8. Mendoza, M., González, I., Vellorí, EJ., Salazar, W., Mendoza, L., Zambrano, EA. y De Albornoz, MC. Aislamiento, identificación y serotipificación de levaduras obtenidas del flujo vaginal en pacientes con clínica de vaginitis. Invest Clin 1999;40(1):25-36.
9. Panizzo, MM; Pérez, C y Maniscalchi, MT. Susceptibilidad *in vitro* a los antifúngicos de *Candida sp.* y serotipos de *Candida albicans* aisladas de pacientes con vaginitis primaria y recurrente. Bol Soc Venez Microbiol 2000;20(1):16-21.
10. Mc Ginnis D. Laboratory Handbook of Medical Mycology 1980. London Academic Press. Inc Ltd.
11. Godoy, P., Almeida, LP. y Lopes Colombo, A. Identificación de *Candida albicans* utilizando el medio cromogénico Albicans ID. Rev Iberoam Micol 2001;18(4):197-99.
12. Ajello L, Georg LK, Kaufman L. Laboratory manual for medical mycology. 1963 CDC, Atlanta,
13. Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH. Manual of Clinical Microbiology. Washington DC, ASM Press 1999.
14. Odds FC, Abbott AB. A simple System for identification of *Candida albicans* and differentiation of strains within species. Sabouraudia 1980; 18:301-7.
15. García-Martos, P., García-Agudo, R., Hernández-Molina, JM., Marín, P., Tallero E. y Mira, J. Identificación de levaduras de interés clínico en el medio de cultivo CHROMagar *Candida*. Rev Iberoam Micol 1998; 15:131-5
16. Azzam-W, M., Cermeño-Vivas, JR., Orellán-García, Y. y Penna V, SJ. Vulvovaginitis por *Candida spp.* y *Trichomonas vaginalis* en mujeres sexualmente activas. Invest Clin 2002;43(1):3-13.
17. Forssmann L, Milsom I. Treatment of recurrent vaginal *candidiasis*. Am J Obstet Gynecol 1985; 152:959-61
18. Reife CM. Office Gynecology for the primary care physician, part I. Med Clin North Am 1996; 80:299-319.
19. Nelson A. the impact of contraceptive methods on the onset of symptomatic vulvovaginal candidiasis within the menstrual cycle. Am J Obstet Gynecol 1997; 176:1376-80.
20. Mlinaric-Missoni E, Lipozencic J, Marinovic-Kulisic S, Mlinaric-Dzepina A. Fungal infections of urogenital System. Acta Dermatovenereol Croat 2004;12(2):77-83.
21. Macphail GLP, Taylor GD, Buchanan-Chell M, Ross C, Wilson S, Kureishi A. Epidemiology, treatment and outcome of candidemia: a five-year review at three Canadian hospitals. Mycoses 2002; 45:141-5.
22. Cherubini B, Sánchez-Mirt A, García L. *Candidosis* vaginal en mujeres sexualmente activas habitantes de una zona rural del estado Falcón, Venezuela. Rev Soc Ven Microbiol 2003;23(1):47-50.
23. Gari-Toussaint M, Delpech D, Paliardini G, Lefichoux Y. Adaptación de ATB Fungus a la determinación des levures au fluconazole. Comparación avec les concentrations minimales inhibitrices et les resultants thérapeutiques. J Micol Med 1996;6:72-75.
24. Powderly WG. Resistant *candidiasis*. AIDS Res Hum Retrovir 1994; 10(8):925-9