

M-25

## OPTIMIZACIÓN DEL MÉTODO PARA LA PRODUCCIÓN RÁPIDA DE CLAMIDOCONIDIAS DE *Candida albicans* Y *Candida dubliniensis*

**Robledo-Briones Angélica M.**, Zavalza-Stiker Alicia, Rojas-Tinoco Ma. Esperanza.

Laboratorio de Micología de la Facultad de Ciencias Químicas de la UASLP. Av. Dr. Manuel Nava #6. Zona Universitaria. Fax: 826 23 72. e-mail: alicia@uaslp.mx.

**Palabras clave:** *C. albicans*, *C. dubliniensis*, clamidoconidias.

**Introducción:** *C. albicans* se presenta en alrededor del 70% de los aislamientos clínicos de levaduras,<sup>1</sup> cepa más sensible al fluconazol y demás triazoles que otras especies. Recientemente ha sido identificada *C. dubliniensis*, muy similar a *C. albicans*. Para su identificación presuntiva se han utilizado las pruebas de filamentación en suero y producción de clamidoconidios, se dice que ésta última es más confiable que la producción de tubo germinativo,<sup>2</sup> sin embargo, por el método tradicional se necesita de períodos de incubación de 72 horas. Recientemente describimos un método con el cual las clamidoconidias se obtienen en 16 horas.<sup>3</sup>

**Objetivo:** Validar el método antes mencionado, que emplea un caldo harina de maíz y leche e incubación en baño metabólico (BM) a 28°C y 150 rpm, y ensayar otro medio de cultivo elaborado con un cereal comercial (Cerelac) y sustituir el uso del BM por el agitador Speci-mix (SM), de uso más común en el laboratorio clínico.

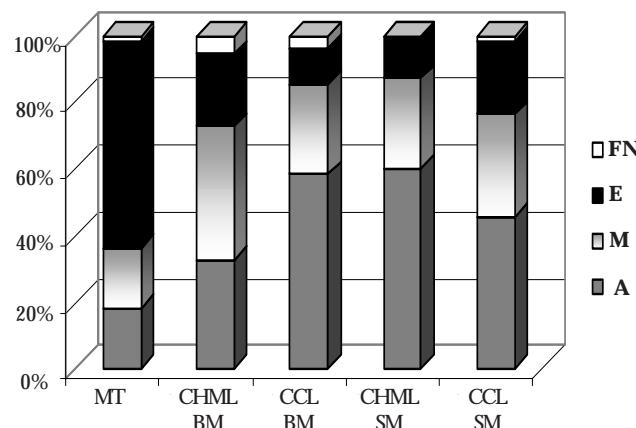
**Metodología:** Se trabajó con 106 cepas de levaduras del género *Candida*, tipificadas con las pruebas de: tubo germinal, clamidoconidios en agar harina de maíz tween 80 (MT), resiembra en CHROMagar y auxonograma con API 20C. Cada cepa se cultivó en caldo harina de maíz al 3% adicionado de 5% de leche (CHML) y caldo de cereal comercial al 3% (CCL). Se inoculó con 100 µL de una suspensión de las levaduras a turbidez 4 de McFarland, se incubó en BM a 28 °C y 150 rpm y en agitador SM a temperatura ambiente (23-26.5 °C) por 16 horas. La producción de clamidoconidios se calificó bajo los criterios positivo y negativo y semicuantitativamente como escasos, moderados y abundantes. Se determinó la proporción de respuestas correctas para el método tradicional y los métodos en estudio y se compararon resultados (prueba de z, con nivel de confianza al 95%). Se determinó sensibilidad, especificidad y eficiencia de los métodos con el Teorema Bayesiano de predicción y tablas de 2x2 y se hizo una comparación de medias con t de Student. La diferencia en los tiempos de incubación resultó tan evidente que no se le realizó análisis estadístico.

**Resultados:** La muestra se conformó por un 50% de *C. albicans*, 2% *C. dubliniensis* y 48% de otras cepas, entre las que predominó *C. tropicalis* (21%). En el siguiente cuadro se expone la sensibilidad y especificidad de todos los métodos empleados.

%	MT	CHML BM	CCL BM	CHML SM	CCL SM
<b>Se</b>	98	95	96	100	98
<b>Es</b>	100	100	100	100	100
<b>Ef</b>	99	97.2	98.1	100	99

No se encontró diferencia estadística significativa en cuanto a proporción de respuestas correctas entre los métodos propuestos y el tradicional ( $p=0.143$ ), tampoco la hubo en cuanto a la sensibilidad ( $p=0.76$ ), especificidad y eficiencia ( $p=0.66$ ) mientras que el tiempo de incubación se redujo 4.5 veces respecto al método tradicional.

Los resultados semicuantitativos muestran mayor producción de clamidoconidias con los métodos propuestos ( $n=55$ ) como se ve en el siguiente gráfico:



**Discusión:** La sensibilidad varió del 95 al 100%. La proporción de respuestas correctas fue ligeramente mayor con CHML en el agitador SM. La producción de clamidoconidias fue más abundante con el CHML SM (60%) y el CCL BM (58%). El tiempo es 4.5 veces inferior al método tradicional.

**Conclusiones:** Todos los métodos propuestos mostraron gran efectividad, con resultados ligeramente superiores para el método con CHML en agitador SM. La mayor ventaja respecto al MT es la reducción del tiempo de incubación. Es posible la sustitución del BM por el agitador SM siempre que la temperatura ambiente se encuentre entre los 23 y 26.5°C.

### REFERENCIAS

1. Carrillo A, et al. *Iber Micol* 2001; 18: 105-108.
2. Rivero-Fuentes R, et al. *Rev de la SEMG* 2003; 59: 672-676.
3. Zavalza-Stiker A, et al. *JMed Mycol* 2006; 47: 231-234.