

Artículo original

REVISTA MEDICA DEL
HOSPITAL GENERAL
DE MEXICO

Vol. 73, Núm. 2 • Abr.-Jun. 2010
pp 94 - 101

Caracterización genotípica de cepas de *Candida albicans* aisladas de la mucosa oral y vaginal de pacientes no inmunocomprometidos

Gloria Luz Paniagua-Contreras,* Eric Monroy-Pérez,**

Juan Pineda-Olvera,** Erasmo Negrete-Abascal,** Sergio Vaca-Pacheco**

RESUMEN

Introducción: *Candida albicans* posee varios factores de virulencia asociados con la patogénesis, entre los cuales se encuentra la familia ALS (*agglutinin-like sequence*), formada por nueve genes que codifican para glucoproteínas de la pared celular que han sido implicadas en la adhesión a la superficie del hospedero. **Objetivo:** El propósito de este estudio fue determinar los genotipos ALS en un grupo de cepas de *C. albicans* aisladas de las mucosas oral o vaginal de pacientes no inmunocomprometidos. **Material y métodos:** La identificación de *C. albicans* se realizó mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) multiplex y la detección de los genes de la familia ALS con PCR convencional. Se identificaron 50 cepas de *C. albicans* obtenidas de pacientes adultos con candidosis oral ($n = 40$) o vulvovaginal ($n = 10$). **Resultados:** Los genes ALS6, ALS4, ALS3 y ALS9 fueron detectados con mayor frecuencia en las cepas de los pacientes con candidosis oral; mientras que ALS1, ALS2, ALS3, ALS4 y ALS9 se identificaron en todas las cepas de los pacientes con candidosis vaginal. Las cepas de *C. albicans* aisladas de la cavidad oral presentaron 20 genotipos ALS distintos, mientras que las vaginales presentaron únicamente cuatro genotipos ALS diferentes. **Conclusiones:** Los resultados presentados en este estudio demostraron la elevada variabilidad de los genotipos ALS entre las cepas de *C. albicans* obtenidas de la cavidad oral y vaginal de los pacientes, por lo que probablemente los patrones de expresión de los genotipos ALS en ambos tipos de candidosis no son los mismos.

Palabras clave: *C. albicans*, ALS, candidosis oral, candidosis vaginal.

ABSTRACT

Introduction: *Candida albicans* has several pathogenesis-associated virulence factors; among them, the ALS family (*agglutinin-like sequence*) formed by nine genes that codify for cell-wall glycoproteins that have been implicated on *C. albicans* adhesion to host surfaces. The aim of this study was to determine the ALS genotypes of *C. albicans* isolated from oral or vaginal mucosa from non immunocompromised patients. **Material and methods:** *C. albicans* was identified by multiplex PCR, and ALS genes were detected by conventional PCR. Fifty *C. albicans* strains obtained from adult patients with oral ($n = 40$) or vulvovaginal ($n = 10$) candidosis were identified. **Results:** ALS6, ALS4, ALS3 and ALS9 genes were detected at a higher frequency on *C. albicans* isolated from oral candidosis, whereas ALS1, ALS2, ALS3, ALS4 and ALS9 were found on all the strains isolated from vagina. Oral isolated *C. albicans* showed 20 different ALS genotypes, whereas vagina isolated *C. albicans* showed only 4 distinct ALS genotypes. **Conclusions:** These results show the high variability of the genotypes ALS between strains of *C. albicans* isolated from the oral and vaginal cavity of our patients; probably, the expression patterns of the genotypes ALS present in each candidosis may be different.

Key words: *C. albicans*, ALS, oral candidosis, vaginal candidosis.

* Estudiante de Doctorado de la División de Ciencias Biológicas y de la Salud, UAM Xochimilco.

** Facultad de Estudios Superiores (FES) Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Recibido para publicación: 20/04/10. Aceptado: 04/05/10.

INTRODUCCIÓN

Candida albicans es un patógeno oportunista capaz de colonizar la piel y las mucosas de personas sanas. Puede causar infecciones graves en la piel, en la cavidad oral o en la vagina, en individuos con el sistema inmune debilitado.¹ Entre las infecciones más comunes ocasionadas por *C. albicans* en sujetos no comprometidos se encuentran la candidosis oral y vulvovaginal. La candidosis oral puede surgir como consecuencia de tratamiento prolongado con antibióticos para combatir infecciones bacterianas, mientras que la candidosis vulvovaginal es una de las infecciones más comunes en mujeres de edad reproductiva, 70-75% de las cuales sufren este padecimiento al menos una vez en su vida,² y 40-50% de ellas suelen presentar una o más reinfecciones.³ La sola presencia de *Candida* spp. en la vagina no significa que exista infección, toda vez que este microorganismo puede aislarse de la vagina en 20% de mujeres asintomáticas.⁴ Aproximadamente, el 80% de los casos de candidosis vaginal son causados por *C. albicans* y el resto por otras especies del género, principalmente por *C. glabrata*.⁵ Se ha reportado que el 60% de 234 mujeres mexicanas con diagnóstico de cervicovaginitis tuvieron cultivos positivos para *C. albicans* y 40% para *Candida* spp.⁶

La virulencia de *C. albicans* es multifactorial, entre los factores más importantes que la determinan se encuentran: el cambio fenotípico, la secreción de enzimas y la adhesión a superficies. El cambio fenotípico (*phenotypic switching*) consiste en que algunas subpoblaciones de las células de *C. albicans* modifican su morfología microscópica o colonial, sus propiedades superficiales, bioquímicas, o su metabolismo, de manera espontánea o en respuesta a un cambio ambiental.⁷ Uno de estos cambios, la filamentación, ocurre en respuesta a la temperatura fisiológica de 37 °C, pH mayor o igual a 7, concentración de CO₂ de 5.5% o presencia de suero, condiciones que estimulan la formación de hifas, más invasivas que la forma de levadura.⁸ Entre las enzimas secretadas por *C. albicans* se encuentran las aspartil proteasas SAPs (*secreted aspartyl proteases*) codificadas por una familia de 10 genes: SAP1-SAP10,⁹ siendo SAP5 y SAP9 los que muestran mayores niveles de expresión *in vivo* en las infecciones de mucosas humanas.¹⁰

C. albicans es capaz de colonizar dispositivos médicos, formando biopelículas¹¹ que pueden desembocar en infecciones severas.¹² Durante la formación de la biopelícula por *C. albicans* se induce la expre-

sión de los genes de la familia ALS (*agglutinin-like sequence*).¹³ Los ocho genes ALS (ALS1 a ALS7 y ALS9) codifican para glucoproteínas localizadas en la superficie celular, las cuales participan en la adhesión de *C. albicans* a las superficies del hospedero.¹⁴⁻¹⁶

Con el propósito de caracterizar los genotipos de virulencia de *C. albicans*, en este estudio se identificaron mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) convencional los genes de la familia ALS en 50 cepas de *C. albicans* aisladas de las mucosas oral y vaginal de pacientes no inmunocomprometidos.

METODOLOGÍA

Obtención de las cepas de *Candida* spp. Se analizaron 50 cepas de *Candida* spp. aisladas de la cavidad oral o vaginal de pacientes no inmunocomprometidos que acudieron al Laboratorio de Análisis Clínicos de la Facultad de Estudios Superiores (FES) Iztacala, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), a realizarse estudios microbiológicos por presentar signos y síntomas de candidosis oral o candidosis vulvovaginal. El género *Candida* fue identificado mediante morfología colonial, microscópica (tinción de Gram) y mediante un sistema de identificación API-Candida del proveedor BioMérieux (Francia), basado en más de 12 diferentes pruebas bioquímicas. Todas las cepas de *Candida* spp dieron positiva la prueba del tubo germinativo.

Extracción del ADN de las cepas de *Candida* spp para PCR

Las cepas de *Candida* spp fueron crecidas toda la noche en caldo de Sabouraud a 37 °C. El ADN fue extraído mediante el kit QIAGEN Genomic-tip 20/G (Qiagen, Valencia, CA, USA) de acuerdo con las instrucciones del proveedor. El ADN molde fue almacenado a -20 °C hasta su utilización.

Detección de *C. albicans* mediante PCR multiplex. En el cuadro 1 se aprecian los 11 oligonucleótidos que se utilizaron para la identificación de *C. albicans* mediante PCR multiplex.¹⁷ Primero se realizó una PCR sencilla de punto final con los primeros universales para el grupo de hongos ITS1 e ITS4. El volumen final de la mezcla de reacción fue 25 microlitros; 5 pmol de cada oligonucleótido (TS1 y TS4), 20 microlitros de H₂O libre de nucleasa, 200 nanogramos de ADN molde, 1.5 mmol de MgCl₂, 0.5 U de AmpliTaq polimerase y 100 mmol de dNTPs (PuRetaqTM Ready-To-GoTM PCR beads). La amplificación del ADN se realizó bajo las siguientes condiciones: desnaturalización inicial a 96 °C durante cinco minu-

tos; seguida de 40 ciclos a 94 °C por 30 segundos, 58 °C por 30 segundos y 72 °C por 30 segundos. Al término una extensión a 72 °C durante 15 minutos. Posteriormente se realizó la PCR multiplex. El volumen final de la mezcla de reacción fue de 25 microlitros; 5 pmol de los oligonucleótidos CALB1 y CALB2, 7 pmol de los oligonucleótidos CGL1 y CGL2, 6 pmol de los oligonucleótidos CPA1e, CPA3f y CPA2, y 4 pmol de los oligonucleótidos CTR1 y CTR2, 15 microlitros de H₂O libre de nucleasa, 200 nanogramos de ADN templado, 1.5 mmol de MgCl₂, 0.5 U de Ampli-

Taq polimerase y 100 mmol de dNTPs (PuRetaqTM Ready-To-GoTM PCR beads). La amplificación del ADN fue realizada bajo las mismas condiciones que para ITS1 e ITS4.

Detección de la familia ALS de *C. albicans* por PCR. En el cuadro II se observan los 16 oligonucleótidos utilizados para la detección de los genes de la familia ALS de *C. albicans* por PCR sencillo conforme a lo descrito previamente.¹³ El volumen final de la mezcla de reacción fue de 25 microlitros; 10 pmol de cada oligonucleótido (cuadro II), 20 microlitros de

Cuadro I. Oligonucleótidos utilizados para la detección de las distintas especies patógenas del género *Candida*.

| Especie | Nombre del oligonucleótido | Secuencia (5'-3') | Tamaños de los amplicones (pb) |
|-----------------------------|----------------------------|---------------------------------|--------------------------------|
| Todos los hongos | ITS1 | TCC GTA GGT GAA CCT GCG G | Variable |
| | ITS4 | TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC | |
| <i>Candida albicans</i> | CALB1 | TTT ATC AAC TTG TCA CAC CAG A | 273 |
| | CALB2 | ATC CCG CCT TAC CAC TAC CG | |
| <i>Candida glabrata</i> | CGL1 | TTA TCA CAC GAC TCG ACA CT | 423 |
| | CGL2 | CCC ACA TAC TGA TAT GGC CTA CAA | |
| <i>Candida parapsilosis</i> | CPA1e | TTG GTA GGC CTT CTA TAT GGG | 320 |
| | CPA3f | GCC AGA GAT TAA ACT CAA CCA A | 300 |
| | CPA2 | CCT ATC CAT TAG TTT ATA CTC CGC | |
| <i>Candida tropicalis</i> | CTR1 | CAA TCC TAC CGC CAG AGG TTA T | 357 |
| | CTR2 | TGG CCA CTA GCA AAA TAA GCG T | |

Cuadro II. Oligonucleótidos utilizados para la detección de la familia ALS de *C. albicans*.

| Gen | Nombre del oligonucleótido | Secuencia (5'-3') | Tamaños de los amplicones (pb) |
|------|----------------------------|---|--------------------------------|
| ALS1 | ALS1F | GAC TAG TGA ACC AAC AAA TAC CAG A | 318 |
| | ALS1R | CCA GAA GAA ACA GCA GGT GA | |
| ALS2 | ALS2F | CCA AGT ATT AAC AAA GTT TCA ATC ACT TAT | 366 |
| | ALS2R | TCT CAA TCT TAA ATT GAA CGG CTT AC | |
| ALS3 | ALS3F | CCA CTT CAC AAT CCC CAT C | 342 |
| | ALS3R | CAG CAG TAG TAG TAA CAG TAG TAG TTT CAT C | |
| ALS4 | ALS4F | CCC AGT CTT TCA CAA GCA GTA AAT | 356 |
| | ALS4R | GTA AAT GAG TCA TCA ACA GAA GCC | |
| ALS5 | ALS5F | TGA CTA CTT CCA GAT TTA TGC CGA G | 318 |
| | ALS5R | ATT GAT ACT GGT TAT TAT CTG AGG GAG AAA | |
| ALS6 | ALS6F | GAC TCC ACA ATC ATC TAG TAG CTT GGT TT | 152 |
| | ALS6R | CAA TTG TCA CAT CAT CTT TTG TTG C | |
| ALS7 | ALS7F | GAA GAG AAC TAG CGT TTG GTC TAG TTG T | 206 |
| | ALS7R | TGG CAT ACT CCA ATC ATT TAT TTC A | |
| ALS9 | ALS9F | CCA TAT TCA GAA ACA AAG GGT TC | 198 |
| | ALS9R2 | AAC TGA AAC TGC TGG ATT TGG | |

Cuadro III. Frecuencia de los genes de la familia ALS en las cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes con candidosis oral ($n = 40$) o vaginal ($n = 10$).

| Gen | <i>Candidosis oral</i> | | <i>Candidosis vaginal</i> | |
|------|------------------------|------|---------------------------|-------|
| | n | % | n | % |
| ALS1 | 27 | 67.5 | 10 | 100.0 |
| ALS2 | 24 | 60.0 | 10 | 100.0 |
| ALS3 | 37 | 92.5 | 10 | 100.0 |
| ALS4 | 38 | 95.0 | 10 | 100.0 |
| ALS5 | 20 | 50.0 | 7 | 70.0 |
| ALS6 | 39 | 97.5 | 10 | 100.0 |
| ALS7 | 25 | 62.5 | 4 | 40.0 |
| ALS9 | 29 | 72.5 | 9 | 90.0 |

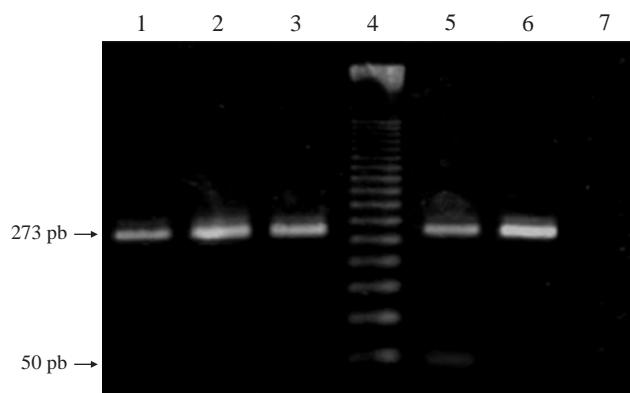


Figura 1. Detección por PCR multiplex de *Candida albicans*. Líneas 1 y 2: *C. albicans* identificadas de pacientes con candidosis oral (273 pb). Línea 3: Control positivo (*C. albicans* ATCC32354). Línea 4: MWM (50 pb ladder). Líneas 5 y 6: *C. albicans* aisladas de pacientes con candidosis vaginal. Línea 7: Control negativo (sin ADN templado).

H_2O libre de nucleasa, 200 nanogramos de ADN molde, 1.5 mmol de MgCl₂, 0.5 U de AmpliTaq polimerasa y 100 mmol de dNTPs (PuRetaqTM Ready-To-GoTM PCR beads). Las siguientes condiciones de amplificación fueron: desnaturación inicial a 94 °C por cinco minutos; seguida de 40 ciclos a 94 °C por 30 segundos, 58 °C por 30 segundos y 72 °C durante 30 segundos. Finalmente, una extensión a 72 °C por siete minutos.

Análisis de los amplicones mediante electroforesis en geles de agarosa. Después de la amplificación del ADN, 10 microlitros de cada muestra fueron analizados por electroforesis en geles de agarosa al 2% bajo las siguientes condiciones: 120 volts, 94 miampers por 120 minutos. Los geles se tiñeron con

bromuro de etidio y fueron fotografiados bajo luz ultravioleta (UV), utilizando el sistema de fotodocumentación modelo GEL LOGIC 100 (KODAK).

Ánalysis de los datos. Para estimar las diferencias estadísticas de la presencia de los genotipos de ALS entre las cepas obtenidas de los pacientes con candidosis oral y vaginal, se utilizaron las pruebas de ANOVA y de t.

RESULTADOS

Origen de las cepas. En este estudio se analizaron 50 cepas de *Candida spp* recuperadas de pacientes con candidosis oral ($n = 40$) o candidosis vaginal ($n = 10$). El 58% de los pacientes fueron mujeres y el 42% hombres, cuya edad se encontró en el intervalo de 19-70 años.

Identificación de *C. albicans* mediante PCR multiplex. Con el propósito de identificar a la especie de *C. albicans*, utilizamos un método de PCR multiplex que incluyó 11 oligonucleótidos (cuadro I). El 100% de las cepas analizadas correspondió a la especie de *C. albicans* (Figura 1).

Detección con PCR convencional de la familia ALS en las cepas de *C. albicans*. En el cuadro III se observan los porcentajes de los diferentes genes de la familia ALS identificados median-

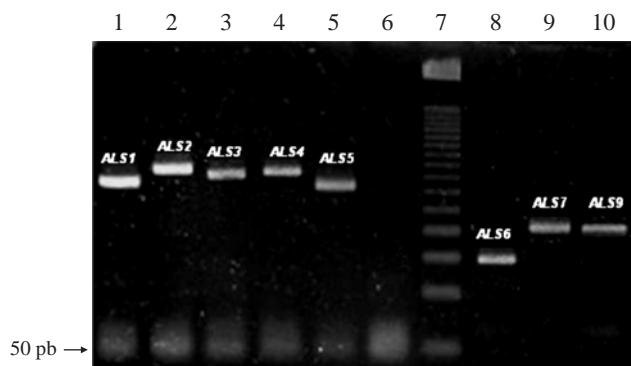


Figura 2. Detección por PCR convencional de la familia de genes ALS en las cepas de *Candida albicans* recuperadas de pacientes con candidosis oral (CO) o vaginal (CV). Línea 1: ALS1 de *C. albicans* ATCC32354 (318 pb). Línea 2: ALS2 de *C. albicans* de paciente con CO (366 pb). Línea 3: ALS3 de *C. albicans* de paciente con CV (342 pb). Línea 4: ALS4 de *C. albicans* de paciente con CO (356 pb). Línea 5: ALS5 de *C. albicans* de paciente con CV (318 pb). Línea 6: Control Negativo (sin ADN templado). Línea 7: MWM (50 pb ladder). Línea 8: ALS6 de *C. albicans* de paciente con CO (152 pb). Línea 9: ALS7 de *C. albicans* de paciente con CV (206 pb). Línea 10: ALS9 de *C. albicans* de paciente con CV (198 pb).

te PCR en las cepas de *C. albicans* recuperadas de los pacientes con candidosis oral o vaginal. Los genes *ALS6*, *ALS4*, *ALS3* y *ALS9* fueron detectados con mayor frecuencia en cepas de *C. albicans* obtenidas de pacientes con candidosis oral, mientras que la mayor frecuencia de genes para las cepas de *C. albicans* obtenidas de pacientes con candidosis vaginal correspondió a *ALS1*, *ALS2*, *ALS3*, *ALS4* y *ALS9*. Estos resultados mostraron que la frecuencia de aparición de los genes *ALS* entre los dos tipos de candidosis fue estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$).

Genotipos *ALS* en las cepas de *C. albicans*. En el cuadro IV y la figura 2 se aprecian los distintos genotipos *ALS* de las cepas de *C. albicans* estudiadas. Las aisladas de la cavidad oral presentaron 20 genotipos distintos, en tanto que las recuperadas de la vagina presentaron únicamente cuatro. En las cepas de candidosis oral, el genotipo más frecuente (17.5%; $n = 7$) estuvo integrado por los siete genes: *ALS1*, *ALS2*, *ALS3*, *ALS4*, *ALS6*, *ALS7*, *ALS9*; mientras que 40% ($n = 4$) de las cepas vaginales mostraron el genotipo constituido por los seis genes: *ALS1*, *ALS2*, *ALS3*, *ALS4*, *ALS6*, *ALS9*.

En el cuadro IV también podemos apreciar que el genotipo conformado por los ocho genes *ALS* estu-

diados, *ALS1*, *ALS2*, *ALS3*, *ALS4*, *ALS5*, *ALS6*, *ALS7*, *ALS9*, se encontró en el 15% ($n = 6$) de las cepas de *C. albicans* de los pacientes con candidosis oral, mientras que en las cepas de las pacientes con candidosis vaginal este genotipo se detectó en el 30% ($n = 3$).

DISCUSIÓN

En este trabajo analizamos 50 cepas de *Candida* spp. aisladas de pacientes no inmunocomprometidos (29 mujeres y 21 hombres) con candidosis oral ($n = 40$) o candidosis vaginal ($n = 10$), con edad comprendida en el intervalo de 19-70 años, que acudieron al Laboratorio Clínico de la FES Iztacala, UNAM, para lo cual utilizamos un método de PCR multiplex que incluyó 10 pares de oligonucleótidos (Cuadro I),¹⁷ que permiten identificar las especies más comunes del género *Candida*. El 100% ($n = 50$) de las cepas estudiadas correspondió a la especie *C. albicans* (Figura 1). Durante las dos últimas décadas, las infecciones humanas por levaduras se han incrementado dramáticamente, debido a una gran variedad de factores, como el empleo de antibióticos de amplio espectro, de drogas inmunosupresoras, de dispositivos intravasculares, y a

Cuadro IV. Genotipos *ALS* en cepas de *C. albicans* aisladas de pacientes con candidosis oral ($n = 40$) o vaginal ($n = 10$).

| Número de patrón | Genotipos <i>ALS</i> | <i>Candidosis oral</i> | | <i>Candidosis vaginal</i> | |
|---------------------|--|------------------------|------|---------------------------|------|
| | | <i>n</i> | % | <i>n</i> | % |
| 1 | <i>ALS1/ALS2/ALS3/ALS4/ALS5/ALS6/ALS7/ALS9</i> | 6 | 15.0 | 3 | 30.0 |
| 2 | <i>ALS1/ALS2/ALS3/ALS4/ALS5/ALS6/ALS7</i> | 1 | 2.5 | 0 | 0.0 |
| 3 | <i>ALS1/ALS2/ALS3/ALS4/ALS5/ALS6/ALS9</i> | 2 | 5.0 | 2 | 20.0 |
| 4 | <i>ALS1/ALS2/ALS3/ALS4/ALS6/ALS7/ALS9</i> | 7 | 17.5 | 0 | 0.0 |
| 5 | <i>ALS1/ALS3/ALS4/ALS5/ALS6/ALS7/ALS9</i> | 3 | 7.5 | 0 | 0.0 |
| 6 | <i>ALS2/ALS3/ALS4/ALS5/ALS6/ALS7/ALS9</i> | 1 | 2.5 | 0 | 0.0 |
| 7 | <i>ALS1/ALS2/ALS3/ALS4/ALS5/ALS9</i> | 1 | 2.5 | 0 | 0.0 |
| 8 | <i>ALS1/ALS2/ALS3/ALS4/ALS6/ALS7</i> | 1 | 2.5 | 0 | 0.0 |
| 9 | <i>ALS1/ALS2/ALS3/ALS4/ALS6/ALS9</i> | 2 | 5.0 | 4 | 40.0 |
| 10 | <i>ALS1/ALS3/ALS4/ALS6/ALS7/ALS9</i> | 2 | 5.0 | 0 | 0.0 |
| 11 | <i>ALS2/ALS3/ALS4/ALS5/ALS6/ALS9</i> | 1 | 2.5 | 0 | 0.0 |
| 12 | <i>ALS2/ALS3/ALS4/ALS5/ALS7/ALS9</i> | 1 | 2.5 | 0 | 0.0 |
| 13 | <i>ALS2/ALS3/ALS4/ALS6/ALS7/ALS9</i> | 2 | 5.0 | 0 | 0.0 |
| 14 | <i>ALS1/ALS3/ALS4/ALS6/ALS7</i> | 1 | 2.5 | 1 | 10.0 |
| 15 | <i>ALS3/ALS4/ALS5/ALS6</i> | 3 | 7.5 | 0 | 0.0 |
| 16 | <i>ALS1/ALS4/ALS6</i> | 1 | 2.5 | 0 | 0.0 |
| 17 | <i>ALS3/ALS4/ALS6</i> | 1 | 2.5 | 0 | 0.0 |
| 18 | <i>ALS3/ALS5/ALS6</i> | 1 | 2.5 | 0 | 0.0 |
| 19 | <i>ALS3/ALS6/ALS9</i> | 1 | 2.5 | 0 | 0.0 |
| 20 | <i>ALS4/ALS5/ALS6</i> | 2 | 5.0 | 0 | 0.0 |

una supervivencia más larga de neonatos e individuos inmunocomprometidos (leucemia, SIDA, cáncer, etcétera).¹⁸⁻²⁰ El elevado porcentaje de *C. albicans* recuperadas de la orofaringe de nuestros pacientes no inmunocomprometidos, refleja que éste es el hongo patógeno aislado con mayor frecuencia de las infecciones orales, la mayoría de cuyas cepas suelen ser resistentes a los antimicóticos comúnmente empleados para combatirlas.²¹

En este trabajo encontramos que el 20% ($n = 10$) de las cepas de *C. albicans* analizadas fueron recuperadas de pacientes con candidosis vaginal. *C. albicans* es el agente causal del 85-90% de los casos de candidosis vaginal, mientras que el 20% son ocasionados por otras especies, como *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, entre otras.^{22,23} La frecuencia de *C. albicans* en las infecciones vaginales ha alcanzado cifras de 87.5% en Argentina,²⁴ 87.9% en Austria²⁵ y 60% en Brasil;²⁶ mientras que en nuestro país a nivel nacional las estadísticas sobre la candidosis vaginal son muy escasas, tan sólo se encuentran las informadas por algunas instituciones de salud como el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), que ha reportado que la vulvovaginitis se encuentra entre los 12 principales motivos de consulta en medicina familiar^{27,28} con una elevada incidencia por *Candida*.²⁹ En la Unidad de Medicina Familiar 53 del IMSS del estado de Guanajuato, en donde existen 39,814 mujeres derechohabientes de 15 a 49 años, se reportó que la candidosis vulvovaginal se situó en el décimo tercer lugar de los principales motivos de consulta.³⁰ En un estudio realizado en pacientes con candidosis vaginal en el Hospital Juárez de México, se aisló *C. albicans* en el 39%, *C. glabrata* en el 35.9% y *C. tropicalis* en el 16.2%, de un total de 631 aislamientos.³¹

En este estudio nosotros describimos que los genes de la familia ALS fueron identificados mediante PCR convencional en las cepas de *C. albicans* recuperadas de los pacientes con candidosis oral o vaginal (Cuadro III); sin embargo, la frecuencia de aparición de los genes entre los dos tipos de candidosis fue estadísticamente diferente ($p \leq 0.05$). Los marcadores genéticos ALS6 (97.5%), ALS4 (95%), ALS3 (92.5%) y ALS9 (72.5%) fueron detectados con mayor frecuencia en cepas de *C. albicans* obtenidas de pacientes con candidosis oral (Cuadro III); mientras que los genes ALS1, ALS2, ALS3, ALS4 y ALS6 se identificaron en el 100% de las cepas de *C. albicans* obtenidas de pacientes con candidosis vaginal (Cuadro III). Los ge-

nes de la familia ALS fueron descritos por primera vez en 1995 en *C. albicans*,³² y poco después se describió que los genes ALS en *C. albicans* pueden ser regulados diferencialmente *in vitro* por condiciones fisiológicas como cambio en el medio de cultivo,³² la forma morfológica del hongo³³ y el estadio de crecimiento.³⁴

Las cepas de *C. albicans* aisladas de la cavidad oral de nuestros pacientes presentaron 20 genotipos ALS distintos y las cepas recuperadas de la cavidad vaginal presentaron únicamente cuatro (Cuadro IV). El genotipo conformado por los ocho genes ALS estudiados se encontró en seis de las cepas (15%) recuperadas de la cavidad oral, y en tres (30%) de las aisladas de la vagina. La elevada frecuencia de los genotipos de ALS detectados entre los tipos de candidosis (oral y vaginal, cuadro IV, figura 2) refleja que probablemente las cepas que poseen mayor número de marcadores de virulencia ALS le confieren una adhesión más fuerte a las células epiteliales del hospedero, además de que posiblemente las glucoproteínas ALS expresadas por estos genes entre los dos tipos de candidosis no son las mismas.

En los últimos años se ha tratado de establecer cuáles son los genes ALS que se expresan como proteínas de adhesión en los distintos tipos de candidosis, para lo cual Green y cols,¹³ estudiaron la expresión por PCR en tiempo real de la familia ALS en un modelo de candidosis oral, utilizando células de epitelio humano reconstituido (RHE). Estos autores demostraron que los genes que se expresaron con mayor frecuencia durante la infección y destrucción del epitelio fueron ALS1, ALS2, ALS3, ALS4, ALS5 y ALS9. Los marcadores de virulencia de *C. albicans* involucrados en la adhesión celular se han estudiado en otros tipos de candidosis; así, Cheng y colaboradores³⁵ estudiaron la expresión por PCR RT de la familia ALS en cepas de *C. albicans* aisladas de fluidos vaginales y en un modelo de candidiasis vaginal. Estos autores describieron que los genes expresados con mayor frecuencia fueron ALS1, ALS2, ALS3 y ALS9.

Los resultados obtenidos en este estudio demostraron una diferencia notable en el número de genotipos diferentes entre las cepas aisladas de la cavidad oral contra las vaginales. Hasta donde sabemos, éste es el primer reporte de la frecuencia de genes de la familia ALS en cepas de origen mexicano, por lo que más adelante será necesario analizar si los genes detectados en las cepas de *C. albicans* se expresan en un modelo *in vitro* de epitelio humano reconstituido.

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo se realizó con el apoyo de la Dirección General de Asuntos del Personal Académico de la Universidad Nacional Autónoma de México (DGAPA, UNAM, proyecto PAPIME PE200209), y de la Facultad de Estudios Superiores Iztacala, UNAM (Proyecto PAPCA Nº 11, 2009-2010).

BIBLIOGRAFÍA

1. Odds FC, Gow NAR, Brown AJP. Toward a molecular understanding of *Candida albicans* virulence. In: Heitman J, Filler SG, Edwards JE Jr, Mitchell AP (eds). Molecular principles of fungal pathogenicity. Washington DC: ASM Press; 2006. p. 305-319.
2. Sobel JD. Vulvovaginal candidosis. Lancet 2007; 369: 1961-1971.
3. Hurley R, De Louvois J. *Candida vaginitis*. Postgrad Med J 1979; 55: 645-647.
4. Goldacre MJ, Watt B, Loudon N, Milne LJ, Loudon JD, Vessey MP. Vaginal microbial flora in normal young women. British Medical Journal 1979; 1: 1450-1455.
5. Fidel PL Jr, Vazquez JA, Sobel JD. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *C. albicans*. Clin Microbiol Rev 1999; 12: 80-96.
6. González-Pedraza A, Ortiz-Zaragoza C, Inzunza-Montiel AE, Ponce-Rosas ER. Candidiasis vaginal: Diagnóstico y tratamiento en atención clínica primaria. Aten Primaria 1998; 21: 395-398.
7. Soll DR, Galask R, Isley S, Gopala Rao TV, Stone D, Hicks J, Schmid J, Mac K, Hanna C. Switching of *Candida albicans* during successive episodes of recurrent vaginitis. J Clin Microbiol 1989; 27: 681-690.
8. Eckert SE, Sheth CC, Muhlschlegel FA. Regulation of morphogenesis in *Candida* species. En: d'Enfert Ch, Hube B (eds). *Candida*. Comparative and functional genomics. Norfolk: Caister Academic Press; 2007. p. 263-291.
9. Hube B, Naglik J. *Candida albicans* proteinases: resolving the mystery of a gene family. Microbiology 2001; 147: 1997-2005.
10. Naglik JR, Moyes D, Makwana J, Kanzaria P, Tsichlaki E, Weindl G, Tappuni AR, Rodgers CA, Woodman AJ, Challacombe SJ, Schaller M, Hube B. Quantitative expression of the *Candida albicans* secreted aspartyl proteinase gene family in human oral and vaginal candidiasis. Microbiology 2008; 154: 3266-3280.
11. Kojic EM, Darouiche RO. *Candida* infections of medical devices. Clin Microbiol Rev 2004; 17: 255-267.
12. Cauda R. Candidaemia in patients with an inserted medical device. Drugs 2009; 69: 33-38.
13. Green CB, Cheng G, Chandra J, Mukherjee P, Ghannoum MA, Hoyer LL. RT-PCR detection of *Candida albicans* ALS gene expression in the reconstituted human epithelium (RHE) model of oral candidiasis and in model biofilms. Microbiology 2004; 150: 267-275.
14. Fu Y, Rieg G, Fonzi WA, Belanger PH, Edwards JE Jr, Filler SG. Expression of the *Candida albicans* gene ALS1 in *Saccharomyces cerevisiae* induces adherence to endothelial and epithelial cells. Infect Immun 1998; 66: 1783-1786.
15. Phan QT, Myers CL, Fu Y, Sheppard DC, Yeaman MR, Welch WH, Ibrahim AS, Edwards JE Jr, Filler SG. Als3 is a *Candida albicans* invasin that binds to cadherins and induces endocytosis by host cells. PLoS Biol 2007; 5: e64.
16. Rauceo JM, De Armond R, Otoo H, Kahn PC, Klotz SA, Gauer NK, Lipke PN. Threonine-rich repeats increase fibronectin binding in the *Candida albicans* adhesin Als5p. Eukaryot Cell 2006; 5: 1664-1673.
17. Luo Guizhen, Mitchell GT. Rapid identification of pathogenic fungi directly from cultures by using multiplex PCR. J Clin Microbiol 2002; 40: 2860-2865.
18. Barchiesi F, Colombo AL, McGough DA, Fothergill AW, Rinaldi MG. In vitro activity of new antifungal triazole, D0870, against *Candida albicans* isolates from oral cavities of patients infected with human immunodeficiency virus. Antimicrob Agents Chemother 1994; 38: 2553-2556.
19. Law D, Moore CB, Wardle HM, Ganguli LA, Keaney MG, Denning DW. High prevalence of antifungal resistance in *Candida* spp. from patients with AIDS. J Antimicrob Chemother 1994; 34: 659-668.
20. Maksymiuk AW, Thongprasert S, Hopfer R, Luna M, Feinstein V, Bodey GP. Systemic candidiasis in cancer patients. Am J Med 1984; 77: 20-27.
21. Paniagua CG, Monroy PE, Negrete AE, Vaca PS. Susceptibility to 5-Fluorocytosine, miconazole, and amphotericin B of *Candida albicans* strains isolated from the throat of non-AIDS patients. Rev Latinoam Microbiol 2002; 44: 65-68.
22. Sobel JD, Faro S, Force RW. Vulvovaginal candidiasis: epidemiologic, diagnostic, and therapeutic considerations. Am J Obstet Gynecol 1998; 178: 203-211.
23. Furneri PM, Corsello S, Masellis G, Salvatori M, Cammarata E, Roccasalva LS, Mangiafico A, Temera G. Econazole-polycarbophil, a new delivery system for topical therapy: Microbiological and clinical results on vaginal candidiasis. J Chemother 2008; 20: 336-340.
24. Saporiti AM, Gomez D, Levalle S, Galeano M, Davel G, Viviot W, Rodero L. Candidiasis vaginal: Etiología y perfil de sensibilidad frente a agentes antifúngicos de uso clínico. Rev Argent Microbiol 2001; 33: 217-222.
25. Paulitsch A, Weger W, Ginter-Hanselmayer G, Marth E, Buzina W. A 5-year (2000-2004) epidemiological survey of *Candida* and non-*Candida* yeast species causing vulvovaginal candidiasis in Graz, Austria. Mycoses 2006; 49: 471-475.
26. Lopes Consolaro ME, Aline Albertoni T, Shizue Yoshida C, Mazucheli J, Peralta RM, Estivalet Svidzinski TI. Correlation of *Candida* species and symptoms among patients with vulvovaginal candidiasis in Maringá, Paraná, Brazil. Rev Iberoam Micol 2004; 21: 202-205.
27. Velasco-Murillo V, Pozos-Cavanzos JL, Cardona-Pérez JA. Enfermedades infecciosas del cérvix uterino, vagina y vulva: Prevención, diagnóstico y tratamiento. Rev Med IMSS 1999; 37: 185-191.
28. Oviedo-Morales MA, Reyes-Morales H, Flores HS, Pérez CR. Fundamentos de las guías clínicas basadas en evidencia. En: Reyes MH, Pérez Cuevas R, Trejo y Pérez JA (eds). Guías de práctica clínica para medicina familiar. México: El Manual Moderno; 2004. p. 9-13.
29. Martínez O, Saldaña GJ, Sánchez HMA. Criterios para el diagnóstico de cervicovaginitis aplicados en el primer ni-

- vel de atención. Correlación con la Norma Oficial Mexicana. Rev Med IMSS 2007; 45: 249-254.
30. Sistema de Información Integral para la Salud (SIAS). Principales motivos de Consulta, Unidad de Medicina Familiar 53. México: IMSS; 2004.
31. Rivera-Sánchez R, Flores Paz R, Arriaga Alba M. Identificación de especies de *Candida* causantes de vaginitis en población Mexicana. Enferm Infect Microbiol Clin 2006; 24: 634-636.
32. Hoyer LL. *Candida albicans* ALS1: domains related to a *Saccharomyces cerevisiae* sexual agglutinin separated by a repeating motif. Mol Microbiol 1995; 15: 39-54.
33. Hoyer LL, Hecht JE. The ALS6 and ALS7 genes of *Candida albicans*. Yeast 2000; 16: 847-855.
34. Hoyer LL. Identification of *Candida albicans* ALS2 and ALS4 and localization of Als proteins to the fungal cell surface. J Bacteriol 1998; 180: 5334-5343.
35. Cheng G, Wozniak K, Wallig AM, Fidel LP, Trupin SR, Hoyer LL. Comparison between *Candida albicans* agglutinin-like sequence gene expression patterns in human clinical specimens and models of vaginal candidiasis. Infect Immun 2005; 73: 1663-1665.

Correspondencia:

Dr. Sergio Vaca Pacheco

Av. de los Barrios 1,
Los Reyes Iztacala
54090 Tlalnepantla, Edo. de México.
Tel/Fax: 56231254
E-mail: vacasergio@gmail.com