

IDENTIFICACIÓN Y SUSCEPTIBILIDAD ANTIMICÓTICA DE ESPECIES DE *Candida* AISLADAS DE LECHE DE BOVINOS Y CAPRINOS

FLORES ARIZMENDI GUADALUPE¹, SEGUNDO ZARAGOZA
CAROLINA¹

Laboratorio de Micología Veterinaria de la Unidad de Servicios de Diagnóstico y Constatación USEDICO del Centro de Enseñanza, Investigación y Extensión en producción Animal en Altiplano. FMVZ. UNAM.

Financiamiento: DGAPA. UNAM. PAPIIME PE205522



INTRODUCCIÓN

Las leches de vaca y cabra son las de mayor producción y demanda en México. Desde hace dos décadas, la mastitis micótica se ha incrementado a causa de diversas especies del género *Candida*.

OBJETIVO

Identificar y evaluar la susceptibilidad antimicótica de especies del género *Candida* aisladas de la leche de bovinos y caprinos y su correlación con el estado sanitario.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los 269 aislados levaduriformes obtenidos de 98 muestras de leche de bovinos y 171 de caprinos con diversos estados sanitarios, se identificaron mediante: desarrollo en SDA (Fig. 1), tinción de Gram (Fig. 2), formación de pseudohifas (Fig. 3), desarrollo en cicloheximida al 0.1% (Fig. 4), asimilación y fermentación de carbohidratos (Fig. 5). Así como desarrollo en CHROMagar *Candida* y agar BIGGY (Fig. 6).

Los ensayos de susceptibilidad antimicótica se realizaron a las cepas de referencia y a los aislados obtenidos, utilizando el método de microdilución en placa descrito por el CLSI (M27-A3, 2017), con los siguientes antimicóticos: fluconazol, itraconazol, ketoconazol, posaconazol, voriconazol, anfotericina B y 5-fluorocitosina (Fig.7).

Las cepas de referencia fueron: *C. albicans* ATCC10213, *C. glabrata* (Inst Pasteur), *C. guilliermondii* ATCC 04121, *C. kefyr* ATCC 041219, *C. krusei* ATCC 6258, *C. lusitanae* ATCC 34449, *C. parapsilosis* ATCC 22019 y *C. tropicalis* ATCC 750.

RESULTADOS

De los 269 aislados obtenidos, se identificaron diversas especies del género *Candida* (Cuadro 1): 68 *C. glabrata*, 67 *C. guilliermondii*, 56 de *C. kefyr*, 40 *C. famata*, 17 *Candida* spp., 11 *C. zeylanoides*, 7 *C. krusei*, 1 *C. parapsilosis*, 1 *C. lusitanae* y 1 *C. bombi*. Los aislados de *C. guilliermondii*, *C. kefyr* y *C. famata*, fueron susceptibles a 5 fluorocitosina, voriconazol y fluconazol, mientras que los aislados de *C. glabrata* y *C. krusei*, fueron sensibles a 5 fluorocitosina y anfotericina B, y resistentes a los azoles.

Cuadro 1. Identificación de las especies del género *Candida* aisladas de la leche de vacas y cabra con diferentes estados sanitarios.

Especie del género <i>Candida</i>	Estado sanitario de la glándula mamaria				Número de aislados
	Vacas		Cabras		
	Mastitis clínica	Mastitis subclínica	Sanas	Sanas	
<i>C. glabrata</i>	7	35	26	0	68
<i>C. guilliermondii</i>	0	0	0	67	67
<i>C. kefyr</i>	0	0	0	56	56
<i>C. famata</i>	0	0	0	40	40
<i>Candida</i> spp	4	2	3	8	17
<i>C. zeylanoides</i>	5	3	3	0	11
<i>C. krusei</i>	7	0	0	0	7
<i>C. parapsilosis</i>	0	1	0	0	1
<i>C. lusitanae</i>	1	0	0	0	1
<i>C. bombi</i>	1	0	0	0	1
TOTAL	25	41	32	171	269



Figura 1. Desarrollo de levaduras en agar dextrosa Sabouraud a 37°C de 24 a 48 h, las colonias se observan de color blanco y consistencia cremosa.

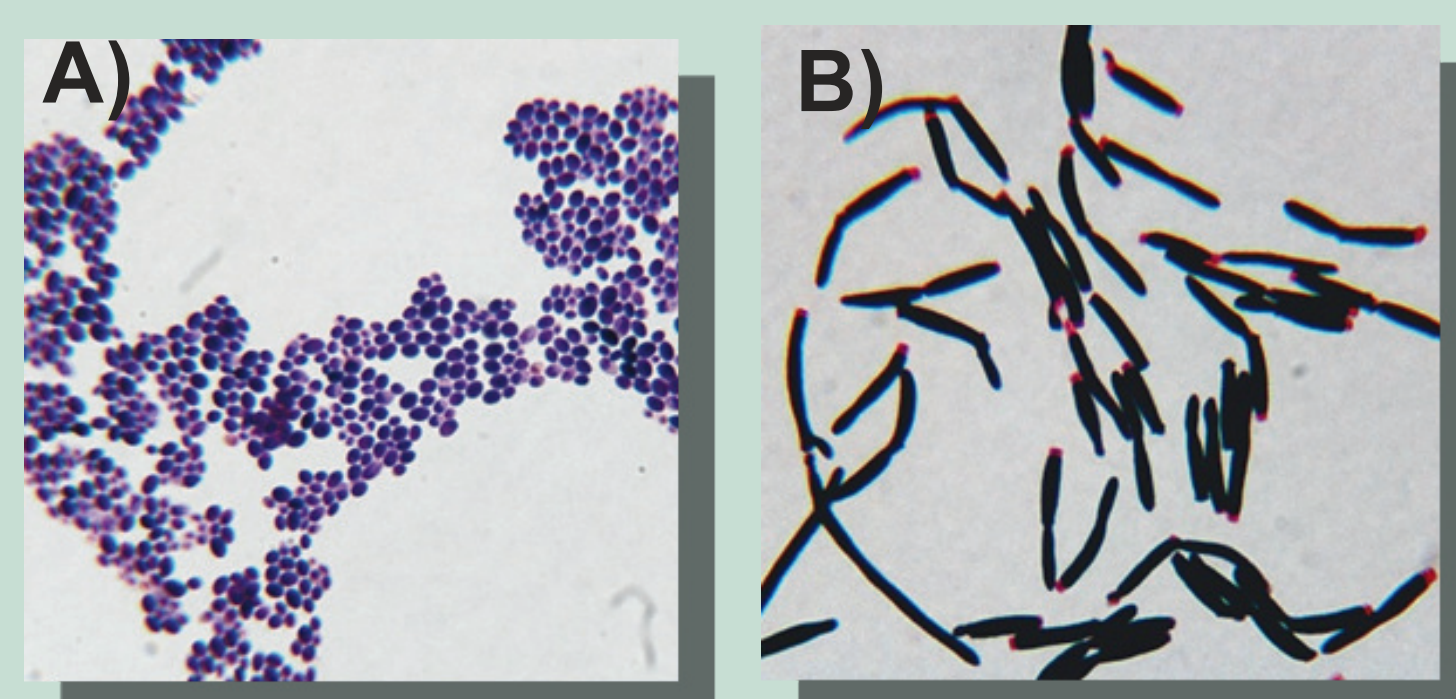


Figura 2. Tinción de Gram. Morfología microscópica de cepas de referencia del género *Candida*. A) *C. glabrata* Instituto Pasteur, blastoconidios redondos a elipsoidales B) *C. krusei* ATCC 6258, blastoconidios alargados delgados

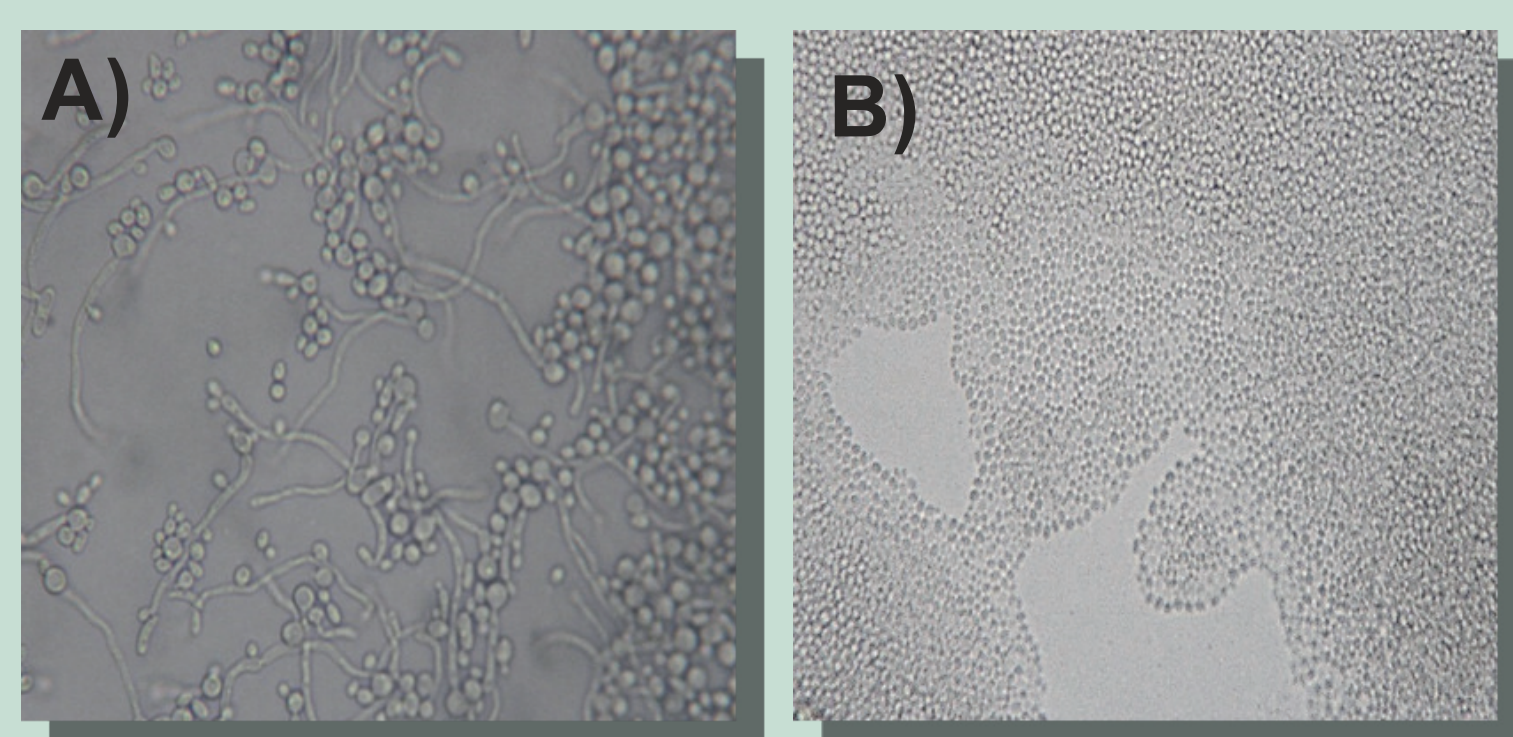


Figura 3. Formación de pseudohifas en agar arroz a 37°C durante 72 horas. A) Cultivo de *C. albicans* ATCC 10231 donde se observan blastoconidios y pseudohifas. B) Cultivo de *C. glabrata* Instituto Pasteur donde se observan solo blastoconidios.



Figura 5. Desarrollo de las cepas de referencia *C. albicans*, en 1) CHROMagar *Candida*, colonias verde esmeralda y 2) agar BIGGY colonias café rojizo.

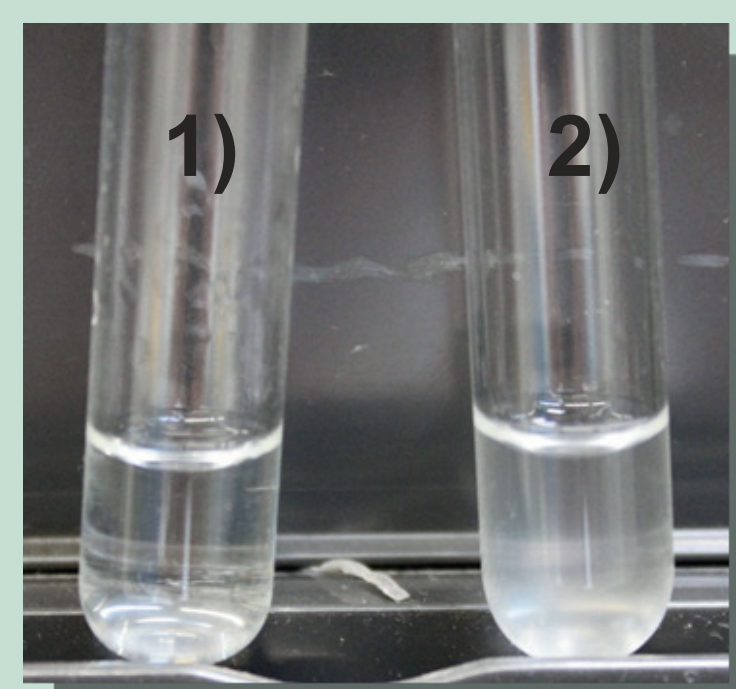


Figura 4. Prueba de susceptibilidad a cicloheximida al 0.1%. 1. *C. glabrata* Instituto Pasteur, tubo sin turbidez, prueba negativa. 2. *C. albicans* ATCC 10231 tubo con turbidez, desarrollo de la levadura, prueba positiva

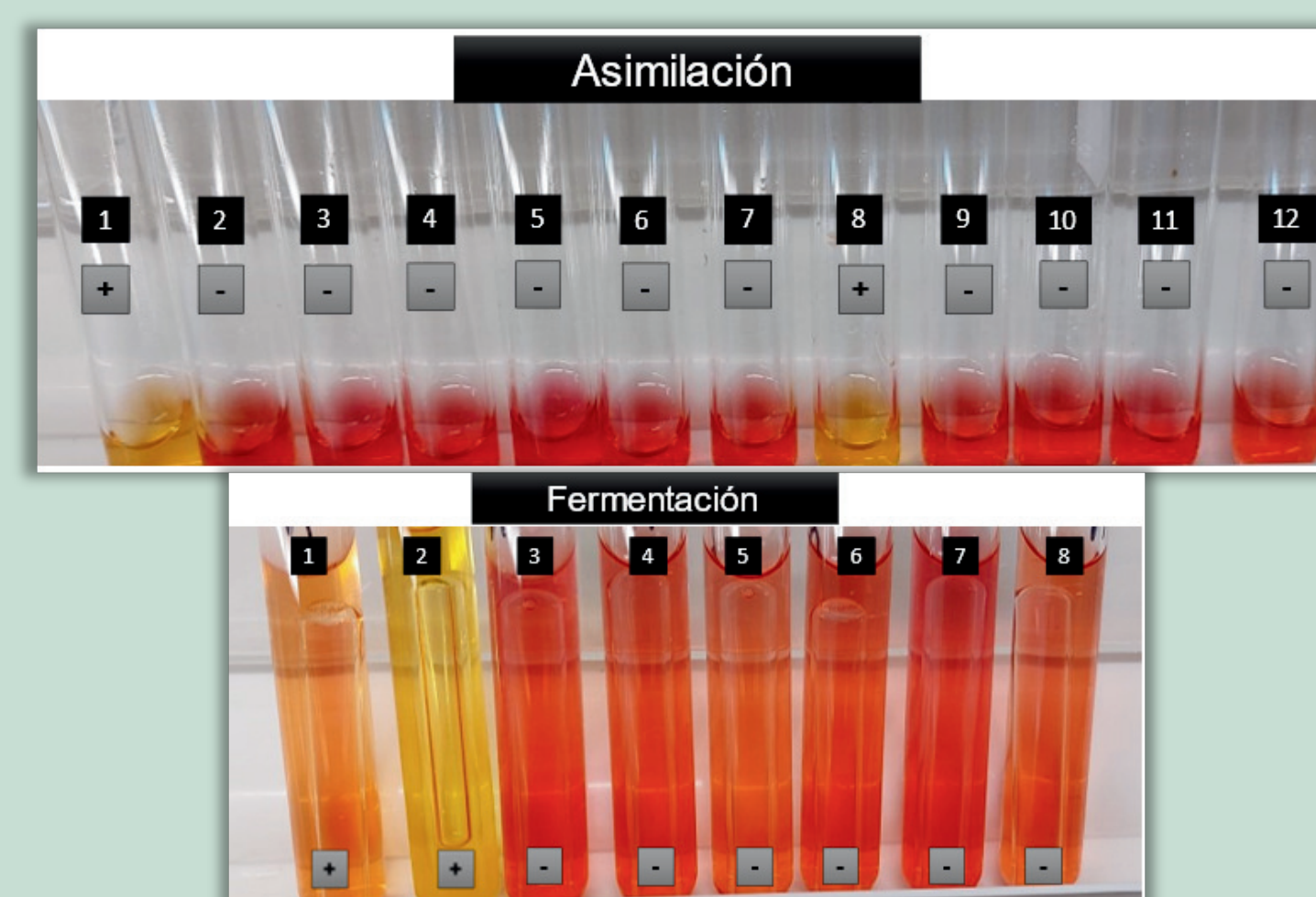


Figura 6. Asimilación y fermentación de carbohidratos de un aislado problema. Asimilación donde: 1: glucosa, 2: maltosa, 3: sacarosa, 4: galactosa, 5: lactosa, 6: rafinosa, 7: celobiosa, 8: trehalosa, 9: D-xilosa, 10: L-arabinosa, 11: melobiosa, 12: inositol. Tubos 1 y 8 positivos en color amarillo; tubos 2 al 7 y 9 al 12 negativos en color rojo. Fermentación donde: 1: glucosa, 2: maltosa, 3: sacarosa, 4: galactosa, 5: lactosa, 6: rafinosa, 7: celobiosa, 8: trehalosa. Tubos 1 y 2 positivos en color amarillo y presencia de gas en tubo Durham; tubos 3 al 8 negativos en color rojo

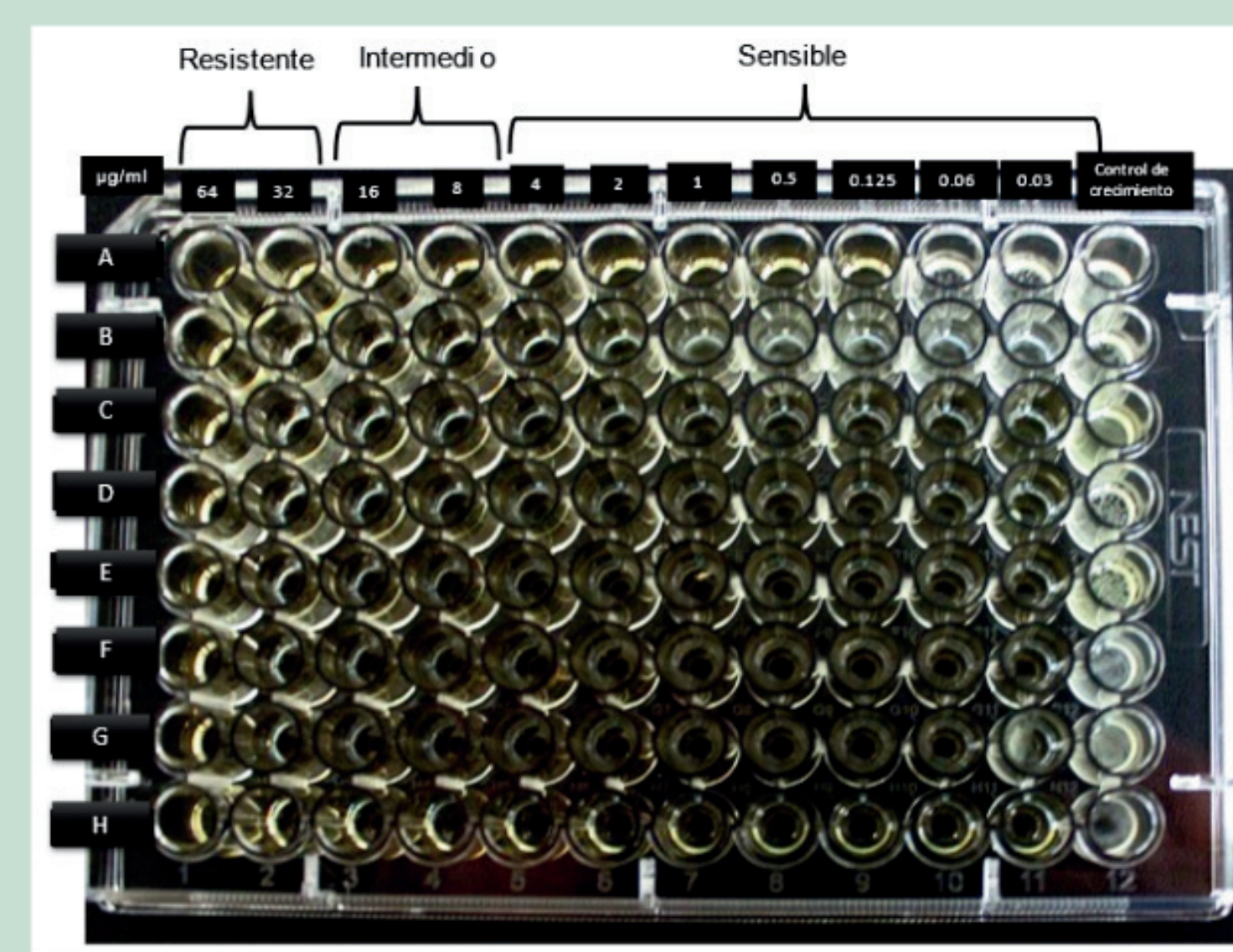


Figura 7. Prueba de susceptibilidad antimicótica a la 5-fluorocitosina de las cepas de referencia. *C. parapsilosis* ATCC 22019 (fila A) desarrollo de 0.06 a 0.03 µg; *C. krusei* ATCC 6258 (Fila B) desarrollo de 1 a 0.03 µg; *C. guilliermondii* ATCC 04121 (Fila C) sin desarrollo; *C. kefyr* ATCC 041219 (Fila D) sin desarrollo; *C. glabrata* Instituto Pasteur (Fila E) sin desarrollo; *C. lusitanae* ATCC 34449 (Fila F) sin desarrollo; *C. albicans* ATCC 10231 (Fila G) desarrollo en 0.03 µg; *C. tropicalis* ATCC 750 (Fila H) sin desarrollo. Columna 12 control de desarrollo.

CONCLUSIONES

1. Las especies aisladas con mayor frecuencia a partir de la leche de cabras clínicamente sanas fueron *C. guilliermondii*, *C. kefyr* y *C. famata*.
2. *C. krusei* es la principal especie aislada de la leche de vacas con mastitis clínica mientras que *C. glabrata* y *C. zeylanoides* son aisladas con mayor frecuencia de la leche de vacas sanas o con mastitis subclínica.
3. *C. krusei* y *C. glabrata* están presentando resistencia natural a los azoles de segunda generación.
4. De acuerdo con el análisis estadístico no existe correlación entre el estado sanitario de la glándula mamaria de los animales con el patrón de susceptibilidad a antimicóticos de las levaduras obtenidas