

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
	Mastitis clínica	Mastitis subclínica	Sanas	Cabras 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.

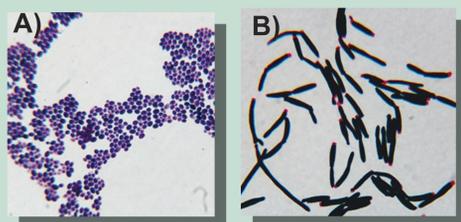


Figura 2. Tinción de Gram. Morfología microscópica de cepas de referencia del género *Candida*. A) *C. glabrata* Instituto Pasteur, blastoconidios redondos a elipsoidales B) *C. krusei* ATCC 6258, blastoconidios alargados delgados

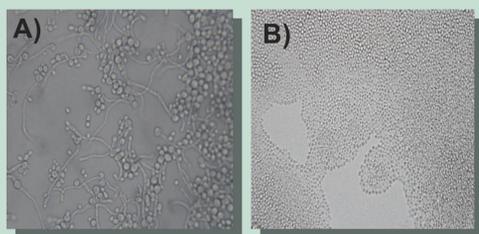


Figura 3. Formación de pseudohifas en agar arroz a 37°C durante 72 horas. A) Cultivo de *C. albicans* ATCC 10231 donde se observan blastoconidios y pseudohifas. B) Cultivo de *C. glabrata* Instituto Pasteur donde se observan solo blastoconidios.



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

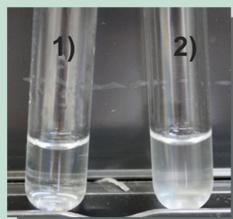


Figura 4. Prueba de susceptibilidad a cicloheximida al 0.1%. 1. *C. glabrata* Instituto Pasteur, tubo sin turbidez, prueba negativa. 2. *C. albicans* ATCC 10231 tubo con turbidez, desarrollo de la levadura, prueba positiva

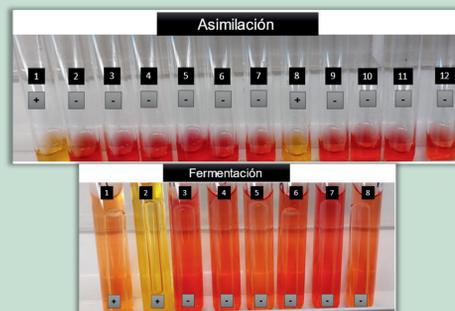


Figura 6. Asimilación y fermentación de carbohidratos de un aislado problema. Asimilación donde: 1: glucosa, 2: maltosa, 3: sacarosa, 4: galactosa, 5: lactosa, 6: rafinosa, 7: celobiosa, 8: trehalosa, 9: D-xilosa, 10: L-arabinosa, 11: melobiosa, 12: inositol. Tubos 1 y 8 positivos en color amarillo;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

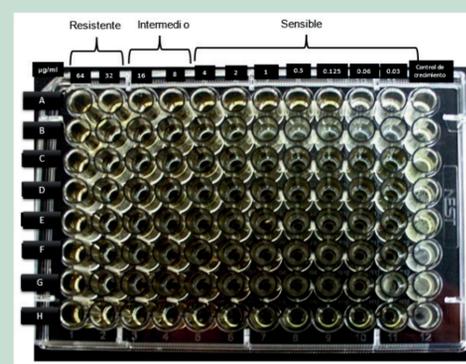


Figura 7. Prueba de susceptibilidad antimicótica a la 5-fluorocitosina de las cepas de referencia. *C. parapsilosis* ATCC 22019 (fila A) desarrollo de 0.06 a 0.03 µg; *C. krusei* ATCC 6258 (Fila B) desarrollo de 1 a 0.03 µg; *C. guilliermondii* ATCC 04121 (Fila C) sin desarrollo; *C. kefyr* ATCC 041219 (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

- Las especies aisladas con mayor frecuencia a partir de la leche de cabras clínicamente sanas fueron *C. guilliermondii*, *C. kefyr* y *C. famata*.
- 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.
- C. krusei* y *C. glabrata* están presentando resistencia natural a los azoles de segunda generación.
- 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