

PRUEBAS PARA IDENTIFICAR ESPECIES DE CANDIDA EN CAVIDAD BUCAL.

Gonzalez; A.M.; Friso, N.E.; Oviedo Arévalo, J.J.; Martínez, C.; Obiols, C.; Escudero E.; Gonzalez, A.; Carballeira, V.; Arce, M.; Tomas, L.

El género *Candida* posee algunas especies patógenas para el hombre aunque comprende más de un centenar de ella. Las especies de este género que producen enfermedad en cavidad bucal, además de *C.albicans* que es la más habitual y virulenta, son otras especies menos virulentas pero que implican un proceso infeccioso como: *C.dubliniensis*, *C.guilliermondi*, *C.krusei*, *C.tropicalis*, etc.

Estas especies son eucariotas, se presentan como levadura o blastosporas con reproducción asexual, presentan factores de virulencia que, según el hospedero o el lugar que ocupen, son variables.

Candida permite la adherencia de sus especies de boca a células endoteliales, epiteliales, plaquetas o a materiales no biológicos. *C.albicans* y *C.tropicalis* poseen mayor grado de adherencia a las células hospederas que *C.guilliermondi* y *C.krusei*. El aumento de la adherencia in Vitro está relacionada con mayor capacidad de infección in vivo debido a una mayor síntesis de la capa fibrilar. La adhesina más importante de *C.albicans* es la nanoproteína con alto contenido de manosa. Las técnicas de identificación que utilizan los laboratorios en la actualidad para identificar *Candida* varían, pero las que se utilizan comúnmente adoptan: el estudio morfológico, usando coloración de Gram. para observar las células levaduriforme o la producción del tubo germinal que nos identifica *C.albicans*. El uso de azul de lactofenol y solución salina en el examen directo permitirá observar candidiasis oral pseudo membranosa. Otra prueba para diferencia *Candida* es la de Urea que medirá cómo las levaduras pueden hidrolizar la molécula de urea en dos moléculas de amonio por acción de la ureasa, dando aumento del pH y cambio de color en el medio. Es negativo para *Candida*.

Las pruebas convencionales pueden llevar varios días en la identificación mientras que los sistemas automatizados identifican las levaduras en 24-48 horas con resultados leídos visualmente a través del Software. Podemos mencionar: Auxacolor, API Candida, Vitex.

Los medios de cultivo diferenciales son los que contienen sustratos cromogénicos o fluorogénicos que detectan actividad enzimática del hongo. Entre ellos hay en el mercado: CHROMagar Candida, Candida ID, Albicans ID. Los métodos inmunológicos detectan antígenos o anticuerpos por medio de inmunofluorescencia indirecta, ELISA, aglutinación en látex. Si bien no son de uso frecuente en el diagnóstico de *Candida* en cavidad bucal mencionaremos las pruebas comerciales *Candida* Check, Bicho Látex Albicans entre otros.

La biología molecular ha utilizado métodos de identificación de varias especies de *Candida*. Los más usados son: el aislamiento de ADN

genómico, secuenciación del ADN, southern blot, para identificación de fragmento de genes que codifiquen ciertas proteínas, métodos de clonación, técnica de Análisis con Enzimas de Restricción, método de Reacción en cadena de la polimerasa (RCP).

Las pruebas fisiológicas y bioquímicas comprenden una serie de ensayos de asimilación (auxonograma-degradación aeróbica) y fermentación (zimograma-degradación anaeróbica) de carbohidratos para la identificación de levaduras. En el auxonograma, la asimilación del azúcar se detecta por el crecimiento visible y cambio del indicador de color en el medio de cultivo, mientras que en el zimograma, su producto se detecta a través de la producción de gas (hidrógeno y anhídrido carbónico). El auxonograma se trata de un método muy poco utilizado actualmente, debido fundamentalmente a lo laborioso del mismo, por lo que se han comercializado algunos que facilitan la identificación de las levaduras.

Han sido descritos varios métodos de Clonación, los más usados son los que involucran la transfección de procariontes y eucariontes con plásmidos conteniendo el ADN en estudio. Algunos de ellos son solamente para estudiar el ADN clonado y otros para expresar la proteína codificada por ese gen. En si, el objetivo de la técnica de clonación es el aislamiento, en grandes cantidades, del ADN en estudio, para ser luego usado en subsecuentes caracterizaciones o en experimentos de expresión del gen, regulación, mapeo genético u otras áreas de la genética molecular. No obstante, es importante saber con certeza, si las células contienen verdaderamente el plásmido con el ADN deseado, es por ello que se recomienda la técnica de Cracking gel, para evaluar, antes de purificar el plásmido, si el mismo contiene o no el ADN clonado.

El objetivo del presente trabajo es poner en conocimiento las diferentes técnicas de identificación de las especies de *Candida* en cavidad bucal, como el estudio de su morfología, fisiología y acción patógena, estudios por pruebas convencionales, bioquímicas, medios de cultivos diferenciales y métodos inmunológicos y de biología molecular.

Todas las técnicas señaladas nos serán de gran utilidad para poder detectar especies *Candida* en cavidad bucal, diferenciarlas y realizar el correcto tratamiento.

BIBLIOGRAFÍA:

- 1- Liebana, J. 2002: Microbiología Oral. 2da. Edición, Mac Graw Hill. Interamericana. España.
- 2- Mendoza, M. 2005: Importancia de la Identificación de la levadura. Rev. Soc. Ven. Microbiol. 25
- 3- Negroni, M. Microbiología Estomatológica. 2da. Ed. Editorial Médica Panamericana. Bs. As. Argentina. 364, 2005.