



FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

COMPARACIÓN ENTRE AGAR ARROZ Y EL AGAR HARINA DE MAÍZ + TWEEN
80 COMO MEDIOS DE DIFERENCIACIÓN PARA LEVADURAS DEL GÉNERO

CANDIDA

Línea de investigación:

Microbiología, parasitología e inmunología

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado Tecnólogo Médico en
Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica

Autor:

Torres López, Gabriel Eduardo

Asesor:

Rojas León, Roberto Eugenio
(ORCID: 0000-0002-5803-9659)

Jurado:

Calderón Cumpa, Luis Yuri
Guerrero Barrantes, Cesar Enrique
Cruz Gonzales, Gloria Esperanza

Lima - Perú

2023

Reporte de Análisis de Similitud

Archivo: 1A _ TORRES LÓPEZ, GABRIEL EDUARDO_TITULO_LICENCIADO_2023

Fecha del Análisis: 15 /06/2023

Operador del Programa Informático: MEDINA VILCHEZ MIRTHA VANESSA

Correo del Operador del Programa Informático: mmedina@unfv.edu.pe

Porcentaje: 0 %

Asesor: Mg. ROBERTO EUGENIO ROJAS LÉON

Título: "COMPARACIÓN ENTRE AGAR ARROZ Y EL AGAR HARINA DE MAÍZ + TWEEN 80 COMO MEDIOS DE DIFERENCIACIÓN PARA LEVADURAS DEL GÉNERO CANDIDA

Enlace:

<https://secure.arkund.com/view/163076527-732908-521955>

Jefe de la Oficina de Grados y Gestión del Egresado:



Mg. Zoila Santos Chero Pisfil



FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

COMPARACIÓN ENTRE AGAR ARROZ Y EL AGAR HARINA DE MAÍZ + TWEEN 80 COMO MEDIOS DE DIFERENCIACIÓN PARA LEVADURAS DEL GÉNERO *CANDIDA*

Línea de investigación: Microbiología, parasitología e inmunología

**Tesis para optar el Título Profesional de Licenciado Tecnólogo Médico en
Laboratorio Clínico y Anatomía Patológica**

Autor

Torres López, Gabriel Eduardo

Asesor

Rojas León, Roberto Eugenio

(ORCID: 0000-0002-5803-9659)

Jurado

Calderón Cumpa, Luis Yuri

Guerrero Barrantes, Cesar Enrique

Cruz Gonzales, Gloria Esperanza

Lima – Perú

2023

DEDICATORIA

A Dios por permitirme concluir mis proyectos y darme la fortaleza para enfrentar las adversidades.

A mis padres Eduardo Torres Vergaray y Leyda López Farfán quienes me apoyaron en este largo, pero satisfactorio proceso de aprendizaje.

A mis hermanos por estar siempre a mí lado.

A mis amigos por compartir conmigo experiencias y momentos inolvidables tanto dentro como fuera de las aulas.

AGRADECIMIENTO:

En primer lugar, tengo la satisfacción de haber pertenecido a una de las mejores universidades del Perú, la “Universidad Nacional Federico Villarreal”, y por ello me siento muy agradecido.

Agradecer también al Instituto Nacional de Salud del Niño por la oportunidad brindada de ejecutar en sus instalaciones mi tesis para obtener el grado de Licenciado Tecnólogo Médico, agradezco especialmente al profesor Roberto Rojas León asesor de este proyecto, por haberme ayudado incondicionalmente, su participación fue imprescindible en la realización de esta investigación.

Un agradecimiento especial a los docentes que ayudaron en mi formación profesional y en especial a los que con sus consejos hicieron posible la realización de este proyecto.

Agradezco también a mis padres y hermanos por el apoyo brindado a lo largo de esta carrera, y a mis amigos que son como mi familia por sus consejos y ayuda.

ÍNDICE

Índice de tablas.....	vi
Índice de figuras.....	vi
Resumen	vii
Abstract.....	viii
I. Introducción	1
1.1. Descripción y formulación del problema	2
1.2. Antecedentes.....	4
1.3. Objetivos	10
- Objetivo General.....	10
- Objetivos Específicos.....	10
1.4. Justificación	11
1.5. Hipótesis.....	11
II. Marco teórico	12
2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación	12
III. Método.....	43
3.1. Tipo de investigación	43
3.2. Ámbito temporal y espacial.....	43
3.3. Variables.....	43
3.4. Población y muestra	45
3.5. Instrumentos	46
3.6. Procedimientos.....	47
3.7. Análisis de datos	49
3.8. Consideraciones éticas	50

IV. Resultados	51
V. Discusión de resultados.....	64
VI. Conclusiones	67
VII. Recomendaciones	69
VIII. Referencias.....	71
IX. Anexos	88

Índice de tablas

Tabla 1: Características de crecimiento para la diferenciación de levaduras del género <i>Candida</i>	22
Tabla 2: Operacionalización de variables	44
Tabla 3: Número de cepas identificadas por intervalo de tiempo para cada medio de cultivo	51
Tabla 4: Características morfológicas y el tiempo de producción entre el agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación de <i>Candida albicans</i>	53
Tabla 5: Características morfológicas y el tiempo de producción entre el agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación de <i>Candida glabrata</i>	53
Tabla 6: Características morfológicas y el tiempo de producción entre el agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación de <i>Candida parapsilosis</i>	54
Tabla 7: Características morfológicas y el tiempo de producción entre el agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación de <i>Candida tropicalis</i>	56
Tabla 8: Prueba de chi- cuadrado de independencia	57
Tabla 9: Prueba de Q-Cochrane para la comparación de diferentes momentos en el tiempo para el agar harina de maíz + Tween 80.....	58
Tabla 10: Prueba de Q-Cochrane para la comparación de diferentes momentos en el tiempo para el agar arroz.....	59

Índice de figuras

Figura 1: Características morfológicas por especie en agar harina de maíz + TWEEN 80	60
Figura 2: Características morfológicas por especie en agar arroz	61
Figura 3: Tiempo de producción de estructuras morfológicas de las levaduras del género <i>Candida</i> en agar harina de maíz + tween 80	62
Figura 4: Tiempo de producción de estructuras morfológicas de las levaduras del género <i>Candida</i> en agar arroz.....	63

Resumen

La mayoría de micosis son producidas por las levaduras del género *Candida* y la candidiasis constituye el 25% de micosis superficiales, por tal motivo, es de gran importancia la identificación correcta del hongo, lo cual se realiza a través de los medios de cultivos recomendados por las entidades de salud. Por lo tanto, se planteó como objetivo comparar las estructuras morfológicas y el tiempo de producción entre agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*. Para ello, se trabajó con una muestra de 170 cepas de *Candida* aisladas de hemocultivos del Instituto Nacional de Salud del Niño, las cuales serán cultivadas en dos medios de cultivo: Agar harina de maíz + Tween 80 y la del Agar arroz para comparar sus estructuras morfológicas y tiempo de producción. Como resultados, se obtuvo que tanto el agar harina de maíz + Tween 80 como el agar arroz demostraron ser medios de cultivo eficientes para la diferenciación de levaduras del género *Candida*; no obstante, se determinó que el agar harina de maíz + Tween 80 fue más eficiente que el agar arroz para la identificación de cepas de *Candida*, ya que permite la identificación del 99,41% de las cepas en comparación con el 90,58% identificado por el agar arroz. Además, el agar harina de maíz + Tween 80 permite una mejor diferenciación de las características morfológicas de las levaduras del género *Candida*. Como conclusión, se encontraron unas diferencias significativas entre las estructuras morfológicas y el tiempo de producción entre agar arroz y el agar harina de maíz + tween 80 con un valor $p < 0,05$.

Palabras clave: *Candida*, Candidiasis, identificación de levaduras, agar arroz, agar harina de maíz

Abstract

Most mycoses are produced by yeasts of the genus *Candida* and candidiasis constitutes 25% of superficial mycoses, for such reason, it is of great importance the correct identification of the fungus, which is performed through the culture media recommended by health entities. Therefore, the aim was to compare the morphological structures and production time between rice agar and corn meal agar + Tween 80 as differentiation media for *Candida* yeasts. For this purpose we worked with a sample of 170 *Candida* strains isolated from blood cultures from the Instituto Nacional de Salud del Niño, which will be cultivated in two culture media: corn meal agar + Tween 80 and rice agar to compare their morphological structures and production time. As results, both corn meal agar + Tween 80 and rice agar proved to be efficient culture media for the differentiation of *Candida* yeasts; however, it was determined that corn flour agar + Tween 80 was more efficient than rice agar for the identification of *Candida* strains, since it allowed the identification of 99.41% of the strains compared to 90.58% identified by rice agar. In addition, corn meal agar + Tween 80 allows a better differentiation of the morphological characteristics of yeasts of the *Candida* genus. Finally, we concluded significant differences were found between the morphological structures and production time between rice agar and corn flour agar + tween 80 with a value $p < 0.05$.

Key words: *Candida*, Candidiasis, yeast identification, rice agar, corn meal agar

I. Introducción

Las levaduras del género *Candida* pertenecen a un grupo de hongos unicelulares que se encuentra comúnmente en la naturaleza y en el cuerpo humano. Estos microorganismos pueden causar infecciones en diferentes partes del cuerpo, incluyendo la piel, las uñas, la boca, el tracto genital y el torrente sanguíneo. Debido a su creciente prevalencia, se requieren métodos diagnósticos precisos y rápidos para una identificación precisa de las especies. Para su identificación y diferenciación, se utilizan diferentes medios de cultivo, siendo el agar sabouraud el más comúnmente utilizado; sin embargo, este medio no es específico para el género *Candida* y puede no diferenciar entre las diferentes especies de la levadura.

En este contexto, el objetivo de esta tesis es comparar las características morfológicas y el tiempo de producción entre agar arroz y el agar harina de maíz + tween 80 (Gold Standar) como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*. Se sabe que estos medios son capaces de diferenciar entre diferentes especies de levaduras del género *Candida*, lo que permite una identificación más precisa y específica. Por tanto, el propósito de este estudio es determinar cuál de estos medios es más efectivo para la diferenciación de las especies de *Candida*. Se espera que los resultados obtenidos en este estudio proporcionen información valiosa y contribuyan al desarrollo de nuevos medios de cultivo más específicos para la identificación de *Candida* y otros hongos patógenos. Además, los resultados de esta investigación pueden contribuir a mejorar el diagnóstico y tratamiento de las infecciones causadas por *Candida* y, en última instancia, mejorar la calidad de vida de los pacientes afectados.

1.1. Descripción y formulación del problema

Anualmente se producen más de 150 millones de casos graves de infecciones fúngicas en todo el mundo, lo que provoca aproximadamente 1,7 millones de muertes al año (Kainz et al., 2020). De manera alarmante, estos números aumentan continuamente con una serie de desarrollos sociales y médicos durante las últimas décadas que han favorecido la propagación de infecciones fúngicas (Bongomin et al., 2017).

La mayoría de micosis son producidas por las levaduras del género *Candida*; en la actualidad, la candidiasis representa la cuarta causa principal de infecciones nosocomiales, y la mortalidad debida a la candidiasis sistémica sigue siendo elevada, oscilando entre el 15% y el 35% en función de la especie de *Candida* infectante (Pal, 2020).

La candidiasis es mas frecuente en la vejez y la infancia, alrededor del 37% de niños pequeños pueden verse afectados por la candidiasis oral durante los primeros meses de vida, así mismo es común en mujeres durante el periodo de gestacion. La candidiasis puede ser el primer indicio para la sospecha de una infección por VIH, universalmente la candidiasis es frecuente en poblaciones mal alimentadas y ocurre por igual en hombres y mujeres. (Arya y Naureen, 2022).

Es por ello que la importancia de una correcta identificación del agente levaduriforme causal de las patologías mencionadas, es de suma importancia para un tratamiento oportuno y adecuado (Gupta et al., 2019) .

Para dichos fines, el medio es un ingrediente necesario en el examen de los cultivos fúngicos, que es el patrón oro para el diagnóstico de la candidiasis. En general, los medios utilizados ya se encuentran en formas de dosificación listas para su uso; sin embargo, el elevado precio de los medios listos y la disponibilidad de recursos puede no ser accesible para la mayoría de laboratorios, es por ello que se busca incentivar la elaboración de medios de agar

maíz y agar arroz como medios alternativos para la identificación de *Candida albicans* (Rachmawati et al., 2022).

En este sentido, el agar arroz, desde su primera descripción fue propuesto como un sistema simple para la identificación presuntiva de *Candida albicans* y la diferenciación de cepas dentro de la especie, el cual puede reemplazar a otras técnicas de mayores costos; sin embargo, pese a la relevancia de este medio alternativo, aún existen vacíos de información en la comparación con otros medios de cultivo y sistemas de identificación comerciales (Sigma, 2013).

Además, debido a su simplicidad, este sencillo método muestra un gran potencial y puede ampliarse para desarrollar dispositivos sólidos para la detección de candidiasis en entornos con recursos limitados (Rachmawati et al., 2022). Por lo antes expuesto, el objetivo de este estudio es comparar las características morfológicas y el tiempo de producción entre agar arroz y el agar harina de maíz + tween 80 (Gold Standar) como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*.

Problema general:

¿Existen diferencias en las características morfológicas y el tiempo de producción entre agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*?

Problemas específicos:

- ¿Cuáles son las características morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar harina de maíz + tween 80 como medio de cultivo?
- ¿Cuáles son las características morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar arroz como medio de cultivo?
- ¿Cuál es el tiempo de producción de estructuras morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar harina de maíz + tween 80 como medio de cultivo?

- ¿Cuál es el tiempo de producción de estructuras morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar arroz como medio de cultivo?

1.2. Antecedentes

Rachmawati et al. (2022), desarrollaron una investigación titulada “Media Alternatif Agar Jagung untuk Identifikasi *Candida albicans*”, en Indonesia. Como objetivo, propuso determinar la sensibilidad de los medios de agar maíz y agar arroz como medios alternativos para la identificación de *Candida albicans*. En cuanto a su metodología, el examen de las características macroscópicas del microorganismo, se llevó a cabo inoculando suspensiones de *Candida albicans* en medios de agar maíz confeccionado, medios de agar arroz confeccionado y medios de harina de maíz como grupo control. Por su parte, el ensayo de las características microscópicas de *Candida albicans* se realizó mediante la técnica de cultivo en portaobjetos. La investigación se llevó a cabo de diciembre de 2019 a junio de 2020 en el Laboratorio de Microbiología Clínica del Centro de Laboratorios de Salud de Surabaya. Basándose en los resultados del examen y el análisis de datos con la prueba de Kruskal Wallis, concluyeron que no hay diferencias significativas en las características macroscópicas y microscópicas de *Candida albicans* en los medios de agar maíz confeccionado, agar arroz confeccionado y harina de maíz (control positivo), por lo que puede decirse que los medios de agar maíz confeccionado y agar arroz confeccionado son sensibles como medios alternativos para la identificación de *Candida albicans*.

Maikan et al. (2022), desarrollaron un estudio titulado “Isolation and identification of *Candida tropicalis* as a cause of cutaneous candidiasis in Kalar District, Iraq”. Como objetivo, propusieron arrojar luz sobre *Candida tropicalis*, la cual ha sido identificada como la levadura más prevalente entre las especies de *Candida* no *albicans*. En cuanto a su metodología, trabajaron con una muestra de cuarenta pacientes con infección fúngica cutánea, los cuales se sometieron

a examen. Para ello, utilizaron un medio de agar arroz, que se preparó mezclando 10 g de arroz y 10 g de agar-agar con agua destilada hasta un volumen final de 1000 ml y se completó con 10 ml de Tween 80. Las muestras se cultivaron en agar Dextrosa Sabouraud y fueron sembradas en tres líneas paralelas sobre agar arroz entre dos portaobjetos y se incubaron a 30°C durante 72 h. Como resultado, la formación de esporas redondeadas o clamidosporas observadas con aumentos de 10X y 40X al microscopio óptico era indicativa de *C. albicans* o *C. dubliniensis*; en base a ello, de acuerdo con la identificación convencional basada en exámenes macroscópicos y microscópicos, se identificaron ocho aislamientos como *C. tropicalis* de *Candida* no -*albicans*. Por lo tanto, concluyeron que este estudio no solo demostró la importancia de *Candida* no-*albicans*, particularmente *C. tropicalis*, en términos de potencial patógeno, la capacidad de causar infecciones sistémicas; sino también el potencial del agar arroz como medio para la identificación de estos microorganismos.

Elnahriry et al. (2022) desarrollaron un estudio titulado “Characterization and antifungal susceptibility of isolated yeast species from different sources in Egypt”, en Egipto, con el objetivo de examinar la aparición de levaduras de diferentes fuentes y evaluar la susceptibilidad antifúngica de las cepas de levaduras aisladas. Como metodología, recolectaron muestras de queso kariesh pasteurizado, hisopos bucales de criaderos de palomas que se quejaron de pérdida de apetito y exudado de queso blanco dentro de la boca, heces fecales de palomas recolectadas del techo del Hospital General Gardens en Menufia, gobernación, Egipto e hisopos vaginales de mujeres que sufren de vulvovaginitis alrededor de los hospitales de la gobernación de Menufia, Egipto. Todas las muestras se recolectaron en el período de enero a mayo de 2020. La prevalencia de especies de levadura fue del 20%, 22%, 21% y 9% en hisopos vulvovaginales de queso kareish, paloma, aves silvestres y mujer, respectivamente. Las muestras preparadas se sembraron en placas de agar dextrosa Sabouraud y se examinaron las características morfológicas de todas las muestras incubadas durante 7 días en la oscuridad a

25°C en medio de agar arroz con Tween 80. En cuanto a los resultados, encontraron que las especies de levadura aisladas, principalmente fueron especies de *Candida albicans*, *C. catenulata*, *C. lusitaniae*, *C. lipolytica*, *C. glabrata*, *C. kefir*, *C. guilliermondii*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. peltata*, *C. norvegensis*, *C. lambica*, *C. tropicalis*, *Cryptococcus neoformans* y *Rhodotorula rubra* dependiendo de su producción de clamidosporas en medio de agar de arroz y confirmada por la formación de tubos germinales.

Abuhena et al. (2022) desarrollaron un estudio titulado “A stressing method for producing high-density *Trichoderma* spores in a dual-layer by utilizing a starch-based medium in a reconditioning approach”, en Bangladesh. En este, establecieron el objetivo de investigar los nutrientes y las condiciones de cultivo para mejorar el crecimiento de *Trichoderma harzianum* TI21 para la producción de esporas a gran escala a través de la fermentación semisólida. Con este fin, utilizaron como metodología medios de agar papa dextrosa, el cual contenía infusión de patata (200 g/L), dextrosa (20 g/L) y agar (20 g/L); y también utilizaron agar de arroz, cuya composición consistió en harina de arroz (20 g/L) y agar (20 g/L). Además, adoptaron un método de estrés para producir esporas de *Trichoderma harzianum* TI21 en una capa dual con una espora en la capa externa libre de residuos de medios mediante el reacondicionamiento del medio de agar de arroz a base de almidón. En base a los resultados, los hallazgos de la prueba factorial única demostraron que los medios de pH más bajos y basados en almidón como el agar de arroz, fomentaban la esporulación al tiempo que suprimían el crecimiento de contaminantes.

Oliveira et al. (2019) presentaron una investigación titulada “Alternative methods for chlamydoconidia test production by *Candida albicans* and *Candida tropicalis*”, en Brasil. El objetivo planteado fue encontrar un sustrato alternativo al agar arroz para evaluar la producción de clamidoconidias, ya que los sustratos industriales al agar arroz no presentan buenos

resultados. En cuanto a la metodología utilizada, utilizaron sustratos para la evaluación, los cuales fueron semillas de soja, chía, tapioca, lino y girasol. Para su preparación, siguieron la fórmula del agar arroz, con 20 gr de arroz, 18 gr de agar-agar, añadiéndose o no aceite de oliva, aceite de palma y Tween 80 (1% de aceite por cada litro de agua destilada). Con base en los factores la mayor formación de clamidoconidias en la mayor variedad posible de muestras, y en la homogeneidad, llegaron a la conclusión de que el uso de Tapioca y Linaza, ambos adicionados a Tween 80, presentaron los mejores resultados en la evaluación. Por lo tanto, se concluyó que estos sustratos pueden ser una alternativa útil al uso de agar arroz para la identificación fenotípica de las especies de *C. albicans* y *C. tropicalis*.

Berrios y Chapoñan (2021) publicaron el estudio titulado “Perfil de susceptibilidad y producción de fosfolipasas en *Candida albicans* y no *albicans*”, con el objetivo de determinar el perfil de susceptibilidad y producción de fosfolipasas en *Candida albicans* y no *albicans* en el Hospital Regional de Lambayeque. En cuanto a su metodología, desarrollaron un estudio descriptivo observacional, con una muestra de 60 cultivos del género *Candida*. Como medio de cultivo, utilizaron agar almidón arroz, en donde sembraron las colonias de *Candida* y las incubaron a 26°C para luego de 48 horas realizar las observaciones morfológicas de los microorganismos. En cuanto a los resultados, identificaron 60 cultivos puros; 22 (36,7%) de *Candida albicans* y 38 (63,3%) de *Candida* no *albicans*, de las cuales 21 fueron de *C. tropicalis*, 7 de *C. glabrata*, 4 de *C. parapsilosis*, 4 de *C. krusei* y 2 de *C. famata*. Por lo cual, el medio de cultivo agar arroz, demostró su efectividad para la identificación de diferentes especies del género *Candida*. Por otra parte, en lo que respecta al estudio de susceptibilidad frente al fluconazol, obtuvieron una prevalencia del 88,3% que fueron sensibles y un 10,0% que mostraron resistencia, así como solo un porcentaje de 1,7% sensible dependiente de la dosis; asimismo, para el voriconazol observaron una prevalencia de 98,3% que fueron susceptibles y solo una 1,7% resistente. Finalmente, sobre la producción de fosfolipasas el

40,0% de los aislamientos presentaron actividad enzimática muy baja, 6,7% baja, el 21,7% moderada y el 31,7% alta.

Cornejo (2021) realizó su tesis titulada “Identificación, sensibilidad antifúngica y estudio de la capacidad formadora de biopelículas de cepas de *Candida* aisladas de pacientes con Candidosis vulvovaginal” con el fin de determinar la identificación, sensibilidad antifúngica y capacidad formadora de biopelículas en cepas de *Candida* aisladas de pacientes con Candidosis vulvovaginal del Instituto de Medicina Tropical Daniel Alcides Carrión. La metodología de la investigación fue de nivel descriptiva, observacional y corte transversal. Asimismo, la muestra se tomó de 60 cepas aisladas de Candidosis vulvovaginal. Los resultados obtenidos permitieron demostrar que, para identificar se usaron procesos de CHROMAgar *Candida* (HIMEDIA), agar almidón arroz (AAA), filamentación en suero (Tubo Germinativo), agar harina de maíz (AHM) y agar tabaco. De esta forma, de las 53 cepas aisladas de flujo vulvovaginal, la cepa que prevaleció fue *Candida glabrata* (50.9%) y la que mostro un buen porcentaje de aislamiento fue *Candida dubliniensis* (1.9%). Concluyendo que el 64.1% de las cepas utilizadas tenían capacidad creadora de biopelículas, es decir este factor de virulencia predominó en esta población.

Nina (2019), ejecutó la investigación titulada “Estudio *in vitro* del efecto antibacteriano de un queso artesanal con cepas probióticas: *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*; sobre el crecimiento de *Cándica albicans*, en los laboratorios de la UCSM”, en Arequipa, con el objetivo de evaluar la capacidad de inhibición *in vitro* de un queso artesanal enriquecido con cepas probióticas de *Saccharomyces boulardii*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus*, sobre el crecimiento de *Candida albicans*. En cuanto a su metodología, fue un estudio comparativo de nivel experimental, en el cual, se utilizó cepas de *Candida albicans* las cuales fueron inoculadas en medios de cultivo como agar Sabouraud,

caldo tioglicolato. Para la observación de producción de clamidiosporas, se utilizó el medio agar harina de maíz adicionado de Tween 80 y agar arroz, ya que demostraron ser más rentables para la verificación de *C. albicans*, en casos en los que la prueba de tubo germinativo resultó confusa o negativa. En cuanto a los resultados, encontró que existe actividad inhibitoria efectiva por parte de los probióticos estudiados sobre el crecimiento de *Candida albicans*.

Figueroa (2019) realizó la investigación titulada “Frecuencia de *Candida* spp. colonizantes resistentes a azoles aisladas de pacientes hospitalizados en una Unidad de Cuidados Críticos”, en la ciudad de Lima. En esta, planteó como objetivo fomentar la frecuencia de *Candida* spp. de capacidad colonizante y con resistencia a Fluconazol y Voriconazol, en aislamientos provenientes de pacientes hospitalizados en dos unidades de cuidados críticos del Hospital José Casimiro Ulloa, de Lima. En cuanto a la metodología, el estudio fue propuesto como uno de tipo analítico y transversal, con una población de 70 cepas en aislamiento de especies del género *Candida* las cuales fueron identificadas por tubo germinativo en un microcultivo realizado en agar arroz, en el que fue determinada la presencia de clamidiosporas o blastosporas para la confirmación de las especies de *Candida*. Además de los exámenes de identificación, se realizará pruebas para la evaluación de susceptibilidad y resistencia a Fluconazol y Voriconazol.

Morón (2018) presentó su trabajo de tesis titulado “Determinación de la actividad antifúngica de nanopartículas poliméricas de quitosano cargadas con ácido S-Nitrosomercaptosuccínico sobre *Candida albicans* y *Candida glabrata*”, con el objetivo de determinar la actividad antifúngica de las MSA-NO Np sobre *C. albicans* y *C. glabrata*. Como metodología, plantearon un estudio descriptivo observacional, en el cual, para la identificación de las cepas, utilizaron agar arroz, con el que recurrieron a las pruebas de presencia de tubo germinativo de dichos microorganismos, así como la formación de clamidiospora. Además,

utilizaron otros agares para funciones específicas, como Mycosel para la asimilación de úrea, caldo Sabouraud para la formación de velo y asimilación de carbohidratos monosacáridos y disacáridos. En base a los resultados, encontraron que las concentraciones mínimas inhibitorias de las MSA-NO Np para *C. krusei* ATCC® (0.14 mg/mL), *C. glabrata* (clínica) (0.14- 0.28 mg/mL), *C. parapsilosis* ATCC ® (0.56 mg/mL) así como *C. albicans* (clínica) (1.13 – 2.25 mg/mL); asimismo, obtuvieron una mayor susceptibilidad al NO por parte de la cepa *C. krusei*, en contraste *C. albicans* resultó la menos susceptible al agente oxidante. Por su parte, se mostró la efectividad de los medios de cultivo utilizados, los cuales cumplieron satisfactoriamente su función, como el agar arroz, agar Mycosel y caldo Sabouraud.

1.3. Objetivos

- Objetivo General

Comparar las características morfológicas y el tiempo de producción entre agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*.

- Objetivos Específicos

- Identificar las características morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar harina de maíz + tween 80 como medio de cultivo
- Identificar las características morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar arroz como medio de cultivo.
- Medir el tiempo de producción de estructuras morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar harina de maíz + tween 80 como medio de cultivo.
- Medir el tiempo de producción de estructuras morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar arroz como medio de cultivo.

1.4. Justificación

La justificación de la presente investigación es: a nivel teórico, se buscará conocer las propiedades del agar arroz y el agar harina de maíz + tween 80 como sustratos de crecimiento y diferenciación de levaduras del género *Candida*, con lo que se podrá aportar a la disminución del vacío teórico en relación con las variables de estudio. Por otro lado, a nivel metodológico permitirá recolectar los datos de laboratorio y ser procesados mediante el uso de un coeficiente estadístico, cuyos resultados serán contrastados con otras investigaciones similares. Por último, a nivel práctico los resultados permitirán elaborar protocolos que permitan reducir el tiempo y costos para el diagnóstico microbiológico de *Candida sp*, además estos resultados aportarán al conocimiento sobre las condiciones de habitabilidad favorables a hongos y microorganismos nocivos para el ser humano, a fin de contribuir con la investigación en la eficiencia del diagnóstico. El presente estudio es factible ya que se cuenta con los materiales de manera accesible para la ejecución del estudio, se dispone del tiempo necesario y será autofinanciado ya que los costos son módicos. El presente estudio es viable debido a que para su ejecución se cuenta con las coordinaciones y los permisos necesarios de las jefaturas correspondientes.

1.5. Hipótesis

Hipótesis General

Ho: No existen diferencias significativas entre agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*.

Hi: Sí existen diferencias significativas entre agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*.

II. Marco teórico

2.1. Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.2.1. Levaduras

Son organismos que pertenecen a un grupo de hongos microscópicos los cuales poseen una pared celular bien definida y cuyo crecimiento se presenta, tanto de manera unicelular, así como producto de una combinación de reproducción por medio de hifas unicelulares (Hernández, 2021).

Actualmente existe registro de alrededor de 1500 especies de levaduras reconocidas hasta el momento, las cuales se distribuyen taxonómicamente dentro de dos filos fúngicos diferentes: Ascomycota y Basidiomycota. Esta clasificación se encuentra dispersa entre distintos subfilos o clases, por lo cual, las levaduras presentan una gran diversidad en cuanto a sus orígenes evolutivos, filogenéticos, así como también de propiedades químicas (Lachance y Walker, 2018). Un aspecto a destacar dentro de esta categorización es que, inicialmente, esta era determinada en base a los rasgos fenotípicos, morfológicos y características fisiológicas de los individuos; sin embargo, en años posteriores, la taxonomía pasó a estar sustentada, además, por los procesos bioquímicos desarrollados por las especies, tales como fermentación, asimilación de azúcares, entre otros (Hernández et al., 2022).

Cabe resaltar que estos microorganismos fueron unos de los primeros en ser usados ampliamente en la industria alimentaria y farmacéutica debido a sus propiedades. Históricamente se han utilizado para la producción de alimentos y bebidas, además, se consumen directamente como complementos alimenticios (Freimoser et al., 2019).

No obstante, también existen levaduras de efectos nocivos que son patógenos fúngicos de importancia médica (Opulente et al., 2019). Cabe destacar que, de manera

general, las levaduras forman parte de la microbiota habitual, pero, en determinadas situaciones las cuales implican a individuos inmunocomprometidos, estas toman un comportamiento de organismos oportunistas (Pote et al., 2020). Si bien algunas de las principales especies causantes de infecciones en humanos y otros animales pertenecen al género *Candida*, la mayoría de patógenos oportunistas pertenecen a diversos grupos filogenéticos y de amplia diversidad genética (Gabaldón et al., 2016).

2.2.2. Género *Candida*

El género *Candida* comprende un grupo diverso de hongos dimórficos, los cuales son habitantes comensales de las membranas mucosas, submucosas y en la superficie de la piel de los organismos humanos y animales (Camp et al., 2020). Este grupo incluye alrededor de 200 especies diferentes, no obstante, solo algunas de ellas son causantes de infecciones. Dicha situación se debe a que las especies pertenecientes a este género expresan rasgos variados de virulencia que desencadenan la patogenicidad (Fatima et al., 2021).

En cuanto a su morfología, las principales características de *Candida* son la presencia de micelio unicelular y la capacidad de formación, tanto de pseudomicelio, como de micelio verdadero. Por otro lado, en cuanto a sus principales procesos bioquímicos, estos microorganismos no producen cantidades significativas de ácido a partir de glucosa; además, pueden o no ser especies fermentadoras (Córdoba y Della, 2021). Adicionalmente, cabe destacar que todas las especies de este género poseen una pared celular delgada con un diámetro que oscila entre 3 a 5 μm (Mantilla et al., 2021).

Cabe mencionar que la principal estrategia reproductiva de estos hongos consiste en un mecanismo llamado gemación, en el cual se observan levaduras acompañadas de

pequeñas estructuras celulares que se adhieren a la membrana mediante un fino tabique (Polke et al., 2015).

Respecto a los métodos de cultivo *in vitro* de estos microorganismos, el género *Candida*, generalmente no requiere condiciones especiales para su crecimiento. Estas pueden proliferar sin dificultades en medios de hemocultivo o en placas de agar, en los cuales las colonias de sus especies presentan características suaves, cremosas, blancas y brillante (Martínez, 2014).

a. *Candida albicans*

Al igual que para la mayoría de miembros del género *Candida*, esta especie suele ser parte de la microbiota humana y de otros mamíferos, en este caso en particular, actúa como comensal de las superficies mucosas orales, gastrointestinales y genitales humanas y de la pie; además, una de sus principales características es su amplia variación fenotípica, las cuales están asociadas con las diferentes morfologías similares a levaduras o filamentos y características de colonias, así como perfiles genéticos distintos (Wilson, 2019).

En consecuencia, esto confiere que *Candida albicans* muestre una diversidad de estados de crecimiento celular que favorecen su establecimiento y persistencia en diferentes tejido (Lopes y Lionakis, 2022). Otro aspecto a destacar sobre *Candida albicans* es que esta puede existir en tres fases: levadura, pseudohifas e hifas. Esta plasticidad es un factor determinante de la resistencia a los medicamentos y también es una forma importante durante la etapa de infección (Wilson, 2019). Además, el paso de *Candida albicans* de levadura a hifa resulta un mecanismo ventajoso para los hongos, el cual los ayuda a evitar la fagocitosis de los macrófagos, aumentando la probabilidad de invadir los tejidos del huésped y causar un daño mayor (Lopes y Lionakis, 2022).

Todo ello, parece indicar que este microorganismo ha desarrollado diferentes fuentes de resistencias, lo cual ha contribuido a que, durante las últimas décadas, *Candida albicans* sea considerada como el principal agente causal de infecciones invasivas potencialmente mortales con tasas de mortalidad cercanas al 40% a pesar del tratamiento (Chen et al., 2020).

Como ya fue mencionado anteriormente, este microorganismo puede colonizar en el ser humano, así como otros animales de sangre caliente; no obstante, existen diferentes estímulos ambientales que afectan el estado morfológico de *Candida albicans*, los cuales incluyen la temperatura del huésped, el pH y la disponibilidad de nutrientes (Lopes y Lionakis, 2022).

En cuanto a su colonización en seres humanos, es muy frecuente encontrar especies de *Candida* presentes en la mayoría de estos, especialmente en el tubo digestivo, desde la cavidad oral hasta el recto; además, también prosperan como comensales en los conductos uretrales, vagina y superficies dérmicas (Enciso, 2018).

Por otro lado, de acuerdo a lo encontrado en la literatura, *Candida albicans* muestra éxito de crecimiento en medios de cultivo como Agar Sabouraud y similares gracias a los cuales se ha podido caracterizar las colonias a nivel macroscópico. Para esta especie, han sido descritos hasta ocho morfotipos distintos, de los cuales cuatro corresponden a morfología de levaduras (con coloraciones blanca, opaca y gris), dos para la forma hifal (con crecimiento lineal y sinusoidal), pseudohifa y clamidiospora. Cabe destacar que cada una de las morfologías mencionadas posee características tanto fenotípicas como genéticas diferentes (Silva, 2022).

b. *Candida glabrata*

Continuando con la revisión de especies del género *Candida*, se conoce que *C. glabrata*, es un patógeno fúngico humano oportunista que causa infecciones superficiales de la mucosa y del torrente sanguíneo potencialmente mortales en personas con un sistema inmunitario comprometido (Kumar et al., 2019). Las infecciones del torrente sanguíneo ocasionadas por esta especie, ocurren con mayor frecuencia en personas de edad avanzada, pacientes diabéticos y receptores de trasplantes de órganos sólidos. Además, también es un agente causante de infecciones vaginales y del tracto urinario (Rodrigues et al., 2014).

En contraste con *C. albicans*, *C. glabrata* ha sido menos estudiada; no obstante, es considerada como la segunda causante más frecuente de candidiasis y su prevalencia varía según el área geográfica en donde se encuentre (Kumar et al., 2019). Por otro lado, *C. glabrata* es conocida por ser una levadura asexual haploide y una de sus características más destacadas es su incapacidad de formar hifas. No obstante, se ha determinado que en ciertas condiciones de crecimiento como la ausencia de nitrógeno y la exposición a CO₂, sumado con la incubación de *C. glabrata* con una línea celular de macrófagos murinos, dan como resultado un cambio en la morfología de la levadura hacia pseudohifas (Castrejón et al., 2022).

Si bien, era sabido que una de las principales características para identificar a las levaduras infecciosas era la presencia de hifas y pseudohifas, con *C. glabrata* se refutó esta afirmación. Es por este motivo que, originalmente, *C. glabrata* se clasificaba en el género *Torulopsis* debido a la ausencia de estas estructuras. Posteriormente se demostró que la especie en cuestión no presenta crecimiento polimórfico, sino solo formación de blastoconidios. Por ello, se consideró entonces que la capacidad de formar pseudohifas no era un aspecto distintivo digno de confianza para identificar a los miembros del género

Candida y se sugirió que *Torulopsis glabrata* podría clasificarse en el género *Candida* por su patogenicidad en humanos (Rodrigues et al., 2014).

Adicionalmente, es importante mencionar que *C. glabrata* está filogenéticamente más relacionada con *Saccharomyces cerevisiae* no patógena que con *C. albicans*, que es la especie patógena más estudiada (Castrejón et al., 2022); a lo que se añade que la capacidad de *C. glabrata* para infectar a humanos ha evolucionado recientemente en términos evolutivos (Gabaldón y Fairhead, 2019). Asimismo, entre los patógenos fúngicos, *C. glabrata* destaca por su especial relación con su huésped. A pesar de que esta levadura carece de algunos atributos de virulencia, como el cambio polimórfico, que es esencial en otras especies de *Candida*, exhibe una serie de características de virulencia que contribuyen significativamente a su agresividad y su proliferación exitosa en mucosas e infecciones sistémicas (Linde et al., 2015).

Por otra parte, respecto a medios de cultivo, el Agar Dextrosa Sabouraud (ADS), ha demostrado ser el más favorable para el crecimiento de *C. glabrata*. En este se observa la formación de colonias brillantes, lisas y de color crema, que son bastante indistinguibles de las de otras especies de *Candida* de otras especies de este género, excepto por su tamaño relativo, que puede ser bastante pequeño. Las células de *C. glabrata* son notablemente más pequeñas que las de otras especies del género *Candida*, llegando a medir entre 1 a 4 µm (Rodrigues et al., 2014).

c. *Candida tropicalis*

Al igual que las mencionadas anteriormente, esta una de las especies levaduras patógenas oportunistas más comunes en los seres humanos. Es capaz de causar infecciones tanto superficiales como sistémicas y su presencia es especialmente frecuente en las regiones tropicales y subtropicales (Jafarian et al., 2022). A diferencia de la especie

anterior mencionada, *C. tropicalis* tiene mayor similitud genética con *C. albicans* que las otras especies de *Candida* de interés médico. Esta íntima relación evolutiva también se evidencia en las características fenotípicas y bioquímicas de ambas especies (Zuza et al., 2017). Asimismo, el genoma de *C. tropicalis* contiene abundantes genes encargados de codificar los factores de virulencia, tales como los que intervienen en la adhesión a los tejidos del huésped, la morfogénesis, el cambio fenotípico y la formación de biopelículas, además de aquellos con proteinasa, fosfolipasa y actividades hemolíticas (Xu, 2021).

Cabe resaltar que esta levadura se caracteriza por poseer distribuciones ecológicas amplias, puesto que se le puede encontrar tanto en ecosistemas terrestres como acuáticos e incluso en asociación con diversidad de árboles, animales y humanos (Wu et al., 2019). Según la teoría evolutiva, se predice que los organismos capaces de prosperar en diversos nichos ecológicos probablemente tengan mecanismos eficientes para generar diversidad genética en la naturaleza. En efecto, acorde al enunciado anterior, en el caso de *C. tropicalis* se han registrado abundantes variaciones genéticas en poblaciones naturales tanto ambientales como clínicas (Xu, 2021).

Entre otros aspectos, respecto a la reproducción de esta especie, al igual que en la mayoría de las levaduras, *C. tropicalis* tiene la capacidad de reproducirse asexualmente de manera eficiente a través de gemación. De hecho, esta puede crecer rápidamente en diversos medios artificiales a través de la mitosis y la yema asexual (Seervai et al., 2013). No obstante, es importante agregar que, hasta hace algunos años, este tipo de reproducción era la única reportada para *C. tropicalis*. Sin embargo, actualmente, se demostró que este microorganismo es capaz de aparearse y tener un ciclo parasexual en ambientes de laboratorio artificiales (Xu, 2021).

Por otro lado, en cuanto a la presencia de *C. tropicalis* en humanos, estos microorganismos han sido aislados a partir de diversas partes del cuerpo, desde la piel hasta la cavidad oral, el tracto gastrointestinal y los sistemas urogenitales, tanto en huéspedes sanos como en pacientes con infecciones sistémicas (Wu et al., 2019). Entre estos últimos, *C. tropicalis* es considerado, comúnmente, como el segundo o tercer agente causal más frecuente, especialmente en aquellos con neoplasias malignas hematológicas (Zuza et al., 2017). Asimismo, las infecciones del torrente sanguíneo por *C. tropicalis* se asocian con altas tasas de mortalidad, que oscilan entre el 41 y el 61 % (Xu, 2021).

Finalmente, respecto a medios de cultivo se ha demostrado que las colonias de *C. tropicalis* presentan crecimiento en Agar Dextrosa Sabouraud (ADS), formando colonias de color blanco a crema, con una textura de aspecto cremoso y apariencia suave; además, sus bordes pueden ser ligeramente arrugados. Por lo tanto, a nivel macroscópico es indistinguible de otras especies de *Candida* (Zuza et al., 2017).

d. *Candida parapsilosis*

En este caso, al igual que las especies ya mencionadas, *C. parapsilosis* coloniza en los seres humanos y otros animales; en los primeros, suele ser típicamente un comensal de la piel y mucosas y puede causar infecciones tanto superficiales como en las mucosas, tales como onicomycosis y vulvovaginitis, además, infecciones profundas, como artritis séptica, endocarditis, peritonitis, meningitis y fungemia (De Aguiar et al., 2017). *C. parapsilosis* es considerada como una de las principales causantes de candidemia; sin embargo, su incidencia varía según la edad, zona geográfica y la categoría del paciente (Arastehfar et al., 2020).

En consecuencia, esta especie se ha descrito como una de las más frecuentes del género *Candida* aisladas en el sur de Europa. Además, recientemente su presencia ha

aumentado y se presume que esto se debe al incremento del uso de catéteres venosos centrales y nutrición parenteral total debido a la creciente complejidad de los pacientes hospitalizados, lo que aumenta el riesgo de los niños desnutridos y los recién nacidos con bajo peso al nacer (Mesini et al., 2020). Por tal motivo, este hongo es de particular importancia; además, complementario a lo ya mencionado, se conoce que tiene la capacidad de formar biopelículas tenaces en los catéteres venosos centrales y otros dispositivos implantados médicamente, lo que amenaza a los pacientes que se han sometido a intervenciones médicas invasivas (Tóth et al., 2019).

Cabe mencionar que, un aspecto importante respecto a *C. parapsilosis* es su reciente cambio taxonómico, como consecuencia de su heterogeneidad genética. Por ello, fue reclasificada como tres especies genéticas, *C. parapsilosis sensu stricto*, *C. orthopsilosis* y *C. metapsilosis*, las mencionadas forman un complejo conocido como “Complejo *Candida parapsilosis*”, no obstante, sus diferencias biológicas aún no han sido completamente dilucidadas (De Aguiar et al., 2017).

Por otro lado, a pesar de estar filogenéticamente más relacionada con *C. albicans* que otras especies de *Candida*, *C. parapsilosis* presenta una biología que difiere notablemente con esta. Las diferencias en la virulencia, los mecanismos reguladores y de resistencia a los fármacos antifúngicos y los grupos de pacientes en riesgo indican que las conclusiones extraídas de la patobiología de *C. albicans* no pueden extrapolarse a *C. parapsilosis*. Estas características específicas de la especie también pueden influir en su reconocimiento y eliminación por parte del huésped, además, en la eficacia de los fármacos antimicóticos (Tóth et al., 2019).

e. *Candida krusei*

Para finalizar la revisión de las principales especies del género *Candida*, es importante mencionar a *C. krusei*. Esta, en comparación con las anteriormente mencionadas, es el patógeno de levaduras emergentes menos estudiado, a pesar de su alta tasa de mortalidad (40-59%), que afecta especialmente a pacientes con neutropenia y neoplasias malignas hematológicas (Domán et al., 2022).

En aspectos generales, *C. krusei* es una levadura ascomiceta diploide y dimórfica que suele existir en formas unicelulares o como pseudohifas y habita a manera de comensal transitorio en la membrana mucosa de individuos sanos. Sin embargo, como ya se ha mencionado en los casos citados anteriormente, esta levadura puede causar infecciones potencialmente mortales en pacientes inmunocomprometidos, además, en los pacientes con neoplasias malignas hematológicas y también en aquellos que usan profilaxis prolongada con azoles tienen un mayor riesgo de contraerla (Jamiu et al., 2021). Por otra parte, en el ámbito veterinario, este organismo también ha sido asociado con enfermedades y deterioro de las condiciones de salud en algunos animales. *C. krusei* es considerado como un patógeno relevante involucrado en la mastitis micótica en vacas, la cual trae como consecuencia una reducción en la producción y calidad de la leche, y, por ende, genera importantes pérdidas económicas en el sector ganadero. Asimismo, se han reportado enfermedades gastrointestinales en aves causadas por esta especie (Domán et al., 2022).

Otra característica específica de esta especie es la presencia de reproducción sexual. Esta, posee una particularidad en su forma sexual (teleomorfo), puesto que debido a las características que presenta, se propuso una categorización diferente, la cual la colocaría como una especie diferente e incluso en un género aparte, siendo conocida con el nombre de *Pichia kudriavzevii*, dicho reordenamiento fue planteado hace varias décadas, sin embargo, el análisis de secuenciación reciente del genoma completo demostró

que no existe una distinción genética entre las dos especies planteadas (Douglass et al., 2018). Asimismo, el estudio filogenético del ADN ribosómico (ADNr) y otros genes conservados junto con las secuencias del genoma reveló una distancia evolutiva significativa entre *C. krusei* y otras especies de *Candida* de importancia médica, hecho que respalda aún más la reclasificación de este organismo en el género *Pichia* y ya no en *Candida*. Aunque este asunto aún es tema de discusión para muchos especialistas, convencionalmente se sugiere utilizar *C. krusei* tanto para su fase sexual y no sexual (Domán et al., 2022).

Por otra parte, respecto a medios de cultivo, esta especie crece efectivamente en agar dextrosa de Sabouraud, en donde se observa la proliferación de las colonias de forma extendida sobre una superficie áspera y con coloración amarillo blanquecino, por tanto, es fácilmente distinguirla entre otras especies de *Candida*.

Tabla 1

Características de crecimiento para la diferenciación de levaduras del género Candida

Especie	Clamidiosporas	Hifas	Pseudohifas	Blastosporas
<i>Candida albicans</i>	Presenta	Presenta	Presenta	Presenta
<i>Candida glabrata</i>	No presenta	No presenta	No presenta	Presenta
<i>Candida tropicalis</i>	No presenta	Presenta	Presenta	Presenta
<i>Candida parapsilosis</i>	No presenta	Presenta	Presenta	Presenta
<i>Candida krusei</i>	No presenta	No presenta	Presenta	Presenta

Nota: La presente tabla muestra las estructuras morfológicas presentes para cada especie del género *Candida* que permiten su identificación en base a la revisión bibliográfica previamente presentada.

2.2.3. Identificación de levaduras del género *Candida*

La identificación de hongos a nivel de especie es una herramienta fundamental tanto en aplicaciones básicas tales como la ecología y taxonomía; así como especializadas, ya sean genómica y bioprospección en la investigación científica (Raja et al., 2017). Los nombres científicos son cruciales para comunicar información sobre los hongos, lo que permite a los investigadores identificar otras especies estrechamente relacionadas para predecir mejor la evolución de los grupos de genes químicos o para priorizar cepas taxonómicamente relacionadas, cuando una cepa productiva puede atenuar la producción de compuestos bioactivos clave. Asimismo, la identificación taxonómica de los hongos es esencial si los productos industriales, agroquímicos o farmacéuticos se van a derivar de una cepa fúngica (Benz y Schipper, 2020).

En este sentido, los micólogos han utilizado tradicionalmente la morfología; es decir, los caracteres externos o fenotípicos, como las estructuras productoras de esporas formadas como resultado de la reproducción asexual (mitosis) o sexual (meiosis), como único medio para identificar especies fúngicas, y aún hoy se sigue adoptando como un medio de identificación de especies dentro de la comunidad micológica; sin embargo, los enfoques morfológicos de la sistemática fúngica, aunque se utilizan de forma rutinaria en estudios taxonómicos fúngicos para la clasificación de hongos a nivel ordinal o familiar, no siempre funcionan bien para clasificaciones de nivel inferior (especies) (Ahrendt et al., 2018). Los caracteres morfológicos a menudo pueden ser engañosos debido a la hibridación, especiación críptica, y evolución convergente; además, identificar hongos

basándose únicamente en la morfología puede ser un desafío, especialmente cuando los no expertos se ocupan de cultivos de hongos, ya que hay un número limitado de caracteres morfológicos que se pueden usar para la identificación. Por ejemplo, las cepas de hongos endosimbióticas, como los endófitos y los hongos endolichénicos, que se utilizan habitualmente para aislar metabolitos secundarios, no siempre esporulan en cultivo, por lo que no proporcionan caracteres fenotípicos para identificarlos en función de la morfología. Para los hongos que esporulan en cultivo, las estructuras asexuales, como la forma y el tamaño de las conidias/esporas, a menudo pueden mostrar caracteres muy plásticos, lo que dificulta la identificación. Para los estados sexuales (teleomorfos), los ascomatas no suelen producirse en cultivo, lo que dificulta su identificación basándose únicamente en la morfología. Como consecuencia, han surgido métodos basados en secuencias de ADN para identificar especies dentro de los hongos megadiversos (Boekhout et al., 2021).

Los métodos tradicionales para identificar *Candida* spp. y otras levaduras incluyen análisis de características morfológicas microscópicas y ensayos de asimilación de sustrato; por otra parte, muchas de las técnicas existentes para la identificación de especies de estos microorganismos pueden llevar mucho tiempo e incluso dar como resultado una identificación no auténtica si se lleva a cabo mediante el uso clásico de técnicas de cultivo de sangre (Pote et al., 2020).

Asimismo, la detección de β -D-glucano, un componente de la pared celular de *Candida*, la prueba de asimilación de carbohidratos y el perfil bioquímico también pueden identificar rápidamente las especies de *Candida* (He et al., 2015). Sin embargo, los métodos anteriores solo pueden identificar algunas especies de *Candida* debido a la falta de ensayos disponibles o poder de resolución para especies crípticas. Muchos de los métodos moleculares desarrollados recientemente son ensayos de PCR en tiempo real que

brindan resultados rápidos; sin embargo, a menudo están limitados en cuanto a la cantidad de especies que se pueden detectar en un solo ensayo y la dificultad para detectar nuevas levaduras patógenas o variaciones de cepas (Zhang et al., 2016). Se observa que a pesar de que la PCR en tiempo real fue específica, no mejora la sensibilidad diagnóstica de la candidemia y la candidiasis invasiva. Los ensayos estándar basados en PCR y sus modificaciones también están limitados en cuanto al número de especies que se pueden identificar a partir de una sola amplificación y la falta de marcadores específicos de especies para todas las levaduras patógenas (Raja et al., 2017).

No obstante, la secuenciación del ADN de productos de PCR amplificados sigue siendo el método más fiable para la identificación auténtica de especies de hongos (tanto micelios como levaduras). Además de los métodos anteriores, los patólogos también utilizan comúnmente el agar cromogénico como medio de cultivo diferencial y hasta ahora ha ayudado en el aislamiento y la identificación presuntiva rápida de especies de *Candida* clínicamente importantes (Lacroix et al., 2014).

a. Identificación fenotípica molecular

Los ensayos fenotípicos para la identificación de especies de *Candida* implican, principalmente, pruebas de asimilación y fermentación de carbohidratos, así como por medio de la investigación de las características morfológicas de las levaduras en agar de extracto de malta y agar de harina de maíz, producción de tubo germinativo y clamidoconidios, utilizados como medios cromogénicos comerciales tales como como CHROMAgar™ ; también se puede determinar el crecimiento de *Candida*, debido a que las especies colonizan a diferentes temperaturas, por cultivo en agar Tween 80 y métodos serológicos (Deorukhkar y Roushani, 2018).

Estos métodos, que se utilizan ampliamente en los laboratorios de microbiología clínica, tienen algunas limitaciones, como la falta de sensibilidad, el costo, el tiempo y la incapacidad para identificar especies importantes, como *C. albicans* y *C. dubliniensis*; por lo tanto, es necesario encontrar enfoques confiables y rápidos para su identificación, y la identificación adecuada ayuda en la selección de fármacos antimicóticos efectivos (Eghtedar et al., 2020).

Por su parte, las técnicas moleculares se conocen como enfoques adecuados para la identificación de especies de *Candida*. Si bien estos métodos son costosos, destacan notablemente por su precisión y velocidad. Algunas de las técnicas moleculares adecuadas para el diagnóstico e identificación de especies de esta levadura son la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), polimorfismo de longitud de fragmentos amplificados (AFLP), polimorfismos de fragmentos de restricción de longitud de PCR (PCR-RFLP), amplificación aleatoria de ADN polimórfico (RAPD), PCR multiplex, reacción en cadena de polimerasa anidada (PCR anidada), secuenciación de ADN, espectrometría de masas de tiempo de vuelo de desorción/ionización láser asociada a matriz (MALDI-TOF MS), huellas dactilares de ADN, análisis de polimorfismo conformacional de cadena única (SSCP) y reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR en tiempo real) (Aslani et al., 2018).

Además, el análisis de fusión de alta resolución (HRMA) es un poderoso método molecular para detectar mutaciones, polimorfismos, información epigenética y también para identificar especies de diferentes organismos comparando posiciones relativas y formas de curvas de fusión. Por su parte, la PCR en tiempo real seguida de HRMA es una técnica básica, rápida, precisa y de tubo cerrado con la susceptibilidad de un solo nucleótido (Eghtedar et al., 2020).

b. Tecnología MALDI-TOF

La espectrometría de masas (MS) identifica y cuantifica moléculas mediante el análisis de las relaciones masa-carga (m/z) de los iones moleculares. El espectro de masas dentro del espectrómetro de masas se puede interpretar para determinar la identidad de diferentes moléculas dentro de una muestra. Los espectrómetros de masas analizan directamente cualquier molécula biológica susceptible ionizada (Tsuchida et al., 2020).

El espectrómetro de masas de tiempo de vuelo de desorción/ionización láser asistido por matriz (MALDI-TOF) es uno de los instrumentos de EM más populares utilizados en biología, debido a su identificación rápida y precisa de géneros y especies. La identificación de microorganismos por espectrometría de masas se basa en la identificación de un espectro característico de cada especie y luego se compara con una gran base de datos dentro del instrumento (Hou et al., 2019).

MALDI tiene la ventaja de requerir menos trabajo previo al análisis, ya que las muestras se mezclan con una matriz química seguida de la generación de iones. MALDI time-of-flight (TOF) MS combina dos tecnologías como la fuente MALDI y la masa TOF. Desde su concepción, esta herramienta ha revolucionado el método de identificación de microorganismos en los laboratorios de microbiología clínica, ya que es un sistema rápido, de alto rendimiento, de bajo costo y eficiente. Una de las principales ventajas de usar MALDI-TOF MS es el ahorro de tiempo, ya que la identificación bacteriana se puede realizar en menos de una hora en lugar de 24 a 48 h (Vrioni et al., 2018).

La rutina de identificación de levaduras mediante MALDI-TOF está totalmente implementada en los laboratorios de microbiología clínica en la actualidad. Aunque el uso de la extracción de proteínas se describió en estudios antiguos, la identificación de levaduras, especialmente aquellas que pertenecen a géneros comúnmente encontrados

como *Candida* o *Cryptococcus*, se realiza directamente de colonias cultivadas en medios de agar y de muestras clínicas (Oviaño y Rodríguez, 2021).

La espectrometría de masas MALDI-TOF depende de la proteína celular, que representa las instrucciones genéticas y los productos de degradación de los microorganismos. Este enfoque, en particular, se basa en la investigación de proteínas altamente expresadas, principalmente ribosomas (Vrioni et al., 2018).

Para determinar la masa a cargar (m/z), estas proteínas se ionizan en moléculas cargadas mediante la eliminación o adición de uno o más protones. La muestra se combina con una mezcla de absorción de energía conocida como "matriz" para su investigación. Después, la muestra atrapada dentro de la matriz cristaliza junto con ella cuando se seca y solidifica. Posteriormente, la muestra se ioniza mediante un rayo láser, lo que produce iones protonados individuales. Luego, estos iones son propulsados a un voltaje establecido y se separan entre sí según su m/z relación, que se calcula cronometrando el tiempo que tarda cada ion en viajar por toda la longitud del tubo de vuelo (Angeletti, 2017).

La "huella dactilar de masa peptídica" (PMF), una proteína espectral de masa distintiva, se crea utilizando los datos de tiempo de vuelo. Luego, este PMF se compara con la biblioteca del dispositivo. Contiene señales exclusivas de géneros y especies específicas de tipos particulares de microorganismos. El patógeno desconocido es bien conocido a nivel de género y especie al comparar el PMF de aislados bacterianos no identificados con los almacenados en la base de datos (Elbehiry et al., 2022).

Cabe resaltar que, los aislamientos identificados mediante MALDI-TOF ha sido aprobado por la FDA para la identificación de todas las especies de *Candida* que se han incluido en este estudio y cuenta con la certificación CE-IVD (aprobado por la Comisión Europea para pruebas in vitro). Asimismo, con el criterio de aceptación para la identificación a nivel de especie establecido en una puntuación de $\geq 1,8$ (validado

internamente), las levaduras con una puntuación de identificación de $<1,8$ se volvieron a analizar en el MALDI-TOF mediante una nueva toma manual del objetivo (Heestermans et al., 2022).

c. Identificación por sistemas comerciales

La metodología convencional es laboriosa y lenta, por lo que se han desarrollado métodos comerciales que permiten una identificación más rápida de estos patógenos dentro de 4 a 72 h, dependiendo del sistema (Kim et al., 2016).

Estos métodos, como API 20C AUX ® y API ID 32C ® (bioMérieux, Francia), y RapID™ Yeast Plus ® (Remel), se basan, principalmente, en la asimilación y fermentación de azúcar. Asimismo, se han desarrollado métodos automatizados apropiados para laboratorios de microbiología, tales como Microscan WalkAway RYID ® (identificación rápida de levadura), Vitek YBC ® (tarjeta bioquímica de levadura), Vitek 2 ID-YST ® y BD Phoenix™ Yeast ID, que pueden tener levaduras identificadas en un período de entre 4 a 48 horas; este último, ha sido diseñado especialmente para la identificación rápida de levaduras clínicamente relevantes (Marucco et al., 2018).

Por su parte, los ensayos utilizados en los paneles son modificaciones de los métodos bioquímicos estándar; estos incluyen, pruebas de fermentación, oxidación, degradación e hidrólisis de varios sustratos, así como sustratos de una sola fuente de carbono, tanto cromogénicos como fluorogénicos. En estos casos, el uso y la degradación de sustratos específicos son detectados por diferentes sistemas de indicadores, mientras que la producción de ácido a partir de carbohidratos se detecta mediante un cambio en el indicador rojo de fenol (Deorukhkar y Roushani, 2018).

Asimismo, los sustratos cromogénicos contienen compuestos de p-nitrofenilo o p-nitroanilida que producen un color amarillo una vez que ha tenido lugar su hidrólisis enzimática, en cuanto a la hidrólisis enzimática de sustratos fluorogénicos, esta da como

resultado la liberación de un producto derivado de la sustancia fluorescente cumarina (Marucco et al., 2018).

Como puede observarse, este tipo de sistemas funcionan utilizando metodologías que se basan en la identificación bioquímica; no obstante, tienen la desventaja de que pueden generar errores de identificación por la falta de experiencia del técnico de laboratorio en la interpretación de los resultados, y con cierta frecuencia estos sistemas no son capaces de diferenciar especies con perfiles bioquímicos similares, porque algunas especies emergentes no están incluidas en sus bases (Zuluaga et al., 2018).

Cabe agregar el hecho de que se han desarrollado varios sistemas comerciales de diagnóstico simplificado basados en la prueba del tubo germinal, la formación de clamidosporas y las pruebas de asimilación de azúcares. Estos métodos comerciales suelen representar una versión miniaturizada de las pruebas convencionales, lo que permite una identificación más cómoda y rápida de las especies de *Candida* (Sudhan et al., 2016).

A continuación, se describe algunos de los métodos comerciales más comunes:

- **Vitek 2 Compact**

El sistema compacto Vitek 2 se basa en el principio de la espectrofotometría, que detecta los cambios metabólicos y el crecimiento de la levadura en micropocillos proporcionados en las tarjetas de identificación de la levadura y pruebas de susceptibilidad antifúngica. Los resultados obtenidos se comparan con una extensa base de datos y a continuación se da la identificación final y la sensibilidad antimicrobiana (Devhare, 2021).

Es importante mencionar que este sistema, utiliza una metodología fluorogénica para la identificación microbiana y un método turbidimétrico para las pruebas de susceptibilidad; por lo tanto, proporciona susceptibilidad en forma de concentraciones inhibitorias mínimas, que son muy útiles para el

tratamiento a fin de decidir la dosis y la duración del fármaco (Kaur et al., 2016).

Por otra parte, el sistema Vitek 2 YST (BioMerieux, Francia) es un sistema totalmente automatizado para la identificación y las pruebas de susceptibilidad antimicrobiana de diferentes microorganismos. Este tiene la ventaja de proporcionar un rápido procedimiento de detección a nivel de especie en 18 horas en lugar de las 48-72 horas de otros métodos (Krishnasamy et al., 2020).

Asimismo, el sistema mencionado, contiene una base de datos ID-YST de Vitek 2 YST para la identificación de levaduras, la cual incluye 54 taxones diferentes que contienen las nuevas especies identificadas y tiene en cuenta los últimos avances en taxonomía. Este incluye tarjetas Vitek-2, que permiten la identificación de especies comparando el perfil bioquímico con una amplia base de datos, además de contener tarjetas de pruebas de susceptibilidad antifúngica (Dakhiel y Samaka, 2021).

En lo referente a la validación, numerosos estudios han demostrado una excelente concordancia entre las técnicas convencionales de identificación de *Candida* y VITEK; se informa esta técnica identifica correctamente entre el 89,9% y el 96,7% de las cepas (Korem et al., 2021).

- **BD Phoenix**

El BD Phoenix es un sistema automatizado basado en el crecimiento de microorganismos, ya sean levaduras o bacterias, para la determinación de las características de resistencia a los antibióticos mediante el uso de varios paneles de prueba. La "prueba de detección de CPO" está integrada en el panel NMIC-502 de la tarjeta BD Phoenix para pruebas de susceptibilidad a los

antimicrobianos de patógenos, que proporciona un medio para (i) detectar y (ii) clasificar carbapenemasas en línea con pruebas de susceptibilidad a los antimicrobianos, y sin mayor carga de trabajo, utilizando crecimiento bacteriano en presencia de meropenem, doripenem, temocilina y cloxacilina, tanto solos como en combinación con varios quelantes e inhibidores de beta-lactamasa (Jonas et al., 2021).

Por otra parte, el sistema automatizado de pruebas de identificación y susceptibilidad BD Phoenix, proporciona una detección rápida, precisa y confiable de la resistencia antimicrobiana conocida y emergente; además, permite la eficiencia del flujo de trabajo mediante el uso de nefelometría automatizada, lo que da como resultado un inóculo aislado estandarizado y una reducción en el error potencial del tecnólogo. Asimismo, cabe agregar que la gestión de datos de última generación supervisa, analiza y comunica resultados procesables directamente a laboratorios y médicos (Höring et al., 2019).

En cuanto a la validación de este método, BD Phoenix sobrestima significativamente la susceptibilidad de los aislados de microorganismos resistentes a carbapenem, amikacina, aztreonam, cefepima, ceftazidima, gentamicina, levofloxacin, meropenem, nitrofurantoína y tobramicina en comparación con la microdilución en caldo. En general, la concordancia categórica del 76 % entre los métodos de prueba indica la posible disminución de la capacidad de BD Phoenix para predecir la resistencia con precisión en aislamientos altamente farmacorresistentes (Haffler et al., 2019).

- **API *Candida***

API Candida es un sistema estandarizado para la identificación de levaduras más frecuentes en microbiología clínica en un lapso temporal de

entre 18 y 24 horas. Está compuesto por 10 tubos que contienen sustratos deshidratados, para realizar 12 pruebas de identificación por medio de acidificación de azúcares o reacciones enzimáticas. Dichas reacciones se producen durante la incubación y dan lugar a cambios de color espontáneos (BioMérieux, 2006).

Asimismo, estas se leen utilizando la función y la identificación se obtiene consultando la lista de perfiles en el prospecto o utilizando un software de identificación, según corresponda (Aarstehfar et al., 2019).

Es importante mencionar, además, que API está basado en la asimilación de 19 azúcares y el principio de presencia o ausencia de formación de hifas/pseudohifas es el que permite identificar especies de levadura clínicamente importantes. Las tiras API, deben prepararse, según lo sugerido por el fabricante y ser incubadas a 30 °C durante 48 a 72 horas (Keçeli et al., 2016).

Por otra parte, sobre la validación de la prueba API Candida realizada para la confirmación de *C. albicans* ha mostrado reacción positiva para cuatro pruebas de asimilación de azúcares, incluidas glucosa, galactosa, sacarosa y trehalosa, y dos pruebas de actividad enzimática, incluidas α -amilasa y N-acetil β -glucosaminidasa, mientras que para pruebas de rafinosa, β -maltosidasa, β -xilosidasa, β glucuronidasa, hidrólisis de urea y β galactosidasa resultaron negativas; por lo tanto la puntuación (Perfil) generada a partir del analizador APIWEBTM fue 7 1 1 2 que confirma 99,9% de identidad de *C. albicans* (Lal et al., 2021).

2.2.4. Medios de cultivo

Un medio de cultivo es un preparado sólido o líquido que contiene todos los nutrientes que necesitan los microorganismos para su crecimiento. Se utiliza para cultivar, transportar y almacenar microorganismos, los cuales pueden utilizar dichos nutrientes como su alimento y es necesario que el procedimiento se realice *in vitro* (Bonnet et al., 2020).

Los medios de cultivo varían en su forma y composición determinadas dependiendo de las especies que se van a cultivar, por lo que no existe un único medio que pueda soportar el crecimiento de la mayoría de los microbios, sino que en algunos casos el medio es específico para cada grupo (Mahon y Lehman, 2022).

Respecto a su composición, esta está formada esencialmente por elementos básicos (agua, nutrientes), a los que se deben añadir diferentes factores de crecimiento que serán específicos de cada bacteria y necesarios para su proliferación y desarrollo (Bonnet et al., 2020).

En este sentido, los microorganismos que infectan al ser humano (comensales o patógenas) son quimioorganoheterótrofos, por ello, cuando se les cultiva, es muy importante proporcionar condiciones ambientales y nutricionales similares a las que existen en su hábitat natural. Por lo general, un medio de cultivo contiene agua, una fuente de carbono y energía, una fuente de nitrógeno, oligoelementos y algunos factores de crecimiento; además, el pH del medio debe ajustarse en consecuencia. Algunos de los ingredientes de los medios de cultivo son agua, agar, peptona, hidrolizado de caseína, extracto de carne, extracto de levadura y extracto de malta (Rao, 2006).

Cabe resaltar que existen medios tanto líquidos como sólidos; el primero se denomina caldo y este puede solidificarse añadiendo agente solidificante agar-agar en la proporción de 1,5 - 2,0% para agar sólido completo y menos del 1% para el medio semisólido. En cuanto al agar-agar es un mucopolisacárido sulfonado que contiene principalmente D-galactosa, ácido D-glucurónico y 3,6 anhidro L-galactosa y este se obtiene de algas marinas rojas, como el *Gelidium* (Sarhan et al., 2019).

Agares cromogénicos

Son medios que aprovechan los sustratos enzimáticos, los cuales liberan tintes coloreados tras la hidrólisis, lo que da como resultado que los patógenos formen colonias coloreadas que pueden diferenciarse fácilmente de la flora comensal. Idealmente, los microorganismos comensales deberían inhibirse por completo mediante agentes selectivos o formar colonias incoloras, lo que permitiría que los patógenos "destaquen" frente a la flora de fondo. Sin embargo, es raro que un patógeno produzca exclusivamente una enzima en particular y es habitual que se incorpore un segundo sustrato cromogénico complementario, lo que hace que algunas bacterias comensales generen un segundo color o una combinación de ambos colores, lo que les permite diferenciarse de los microorganismos comensales patógeno objetivo (Perry y Freydière, 2007).

Los medios cromogénicos están diseñados principalmente para limitar el requisito de detección de organismos comensales para excluir la presencia de patógenos, ahorrando así tiempo y reactivos. Estos también pueden ofrecer una mayor sensibilidad, ya que las colonias coloreadas se pueden detectar más fácilmente cuando están presentes entre otra flora, lo cual, a menudo se ve aumentado por mejoras en la

selectividad, en comparación con los medios de cultivo convencionales, lo que limita la cantidad de flora comensal que puede crecer (Scharmann et al., 2020).

Cabe resaltar que un sustrato cromogénico ideal debe hidrolizarse para liberar un producto coloreado que permanezca altamente localizado en las colonias microbianas. Esto permite diferenciar claramente los microbios que producen la enzima diana de los que no. Esto es especialmente importante cuando se intenta detectar patógenos específicos dentro de cultivos polimicrobianos. El sustrato y los productos de hidrólisis no deben inhibir el crecimiento microbiano (Borman et al., 2021).

Los medios de aislamiento cromogénico se usan ampliamente porque han demostrado mejores tasas de detección de levaduras en cultivos mixtos que los medios tradicionales, y esto a menudo resulta en ahorros de costos debido a la reducción del tiempo de trabajo, reactivos o menos pruebas de confirmación; en este sentido, estudios de validación del medio, demostraron que CHROMagar™ *Candida* Plus mostró un buen rendimiento, con una sensibilidad y especificidad fueron del 100 % para las especies de *Candida* a las 48 h de incubación, excepto para *Candida glabrata* y *Candida lusitanae*. Además, en algunos casos permite una identificación presuntiva fiable de especies como *C. auris*, ya que se le asigna un color específico para esta especie (azul claro con halo azul), obteniendo una sensibilidad y especificidad del 100% a las 36 h de incubación (Mulet et al., 2020). Otros estudios clínicos reportaron sobre las estimaciones de sensibilidad y especificidad para las pruebas de investigación en muestras recolectadas por médicos fueron 91,7% y 94,9% para el grupo de especies de *Candida*; 84,7% y 99,1% para *C. glabrata* (Schwebke et al., 2020).

Agar arroz

Es un medio de cultivo de ensayo, utilizado para la diferenciación de levaduras, en particular de *Candida albicans* y *Candida stellatoidea* junto con otras especies del género *Candida*, basándose en sus clamidosporas típicas. Asimismo, otras especies de levaduras pueden diferenciarse sobre la base de criterios micromorfológicos con agar extracto de arroz (Ingle et al., 2019).

En este medio, el extracto de arroz es la única fuente de nutrientes del medio; por lo tanto, la falta de nutrientes junto con las condiciones de cultivo deficientes en oxígeno crea un entorno que induce la formación de formas morfológicas específicas tales como clamidosporas y pseudomicelios en algunas levaduras. Para casos particulares, la adición de otros compuestos puede ser utilizada para determinados fines, como al agregar solución de Tween 80, lo cual favorece la formación de clamidosporas en la mayoría de las especies de *Candida* (Sigma, 2013).

Agar harina de maíz

El agar harina de maíz es un medio de cultivo bien establecido, el cual consiste en un sustrato que se utiliza como medio de uso general para el cultivo de hongos, para el estudio de la formación de micelio o pseudomicelio, y para el estudio de especies de *Candida* para la producción de clamidosporas. Cuando se cultiva en este medio, el examen microscópico de *Candida albicans* muestra la producción característica de clamidosporas, que es un criterio aceptado para la identificación de esta especie (V. Gupta et al., 2019).

Este sustrato está compuesto por una parte de infusión de harina de maíz (aproximadamente de 50g de maíz entero) y la base de agar como agente gelificante.

En cuanto a su apariencia, este tiene una presentación de polvo de coloración amarillenta, gránulos gruesos y fluido; sin embargo, en su forma gelificada, destaca por su apariencia firme, un gel opalescente de color ámbar claro el cual se mantiene en placas Petri (Millipore y Sigma, 2018).

Cabe resaltar que el agar de harina de maíz es un medio empobrecido desde el punto de vista nutricional y, por lo tanto, puede emplearse para el mantenimiento de cultivos madre de hongos, especialmente las variedades de pigmento negro (V. Gupta et al., 2019).

Por otro lado, la infusión de harina de maíz es un compuesto muy nutritivo rico en fuentes de carbono y aminoácidos, así como en muchos otros oligoelementos que favorecen el crecimiento de los hongos. Además, con la adición de dextrosa se observa un crecimiento más vigoroso de algunos hongos (Millipore y Sigma, 2018).

Es importante resaltar que, usando un aumento de baja potencia, se puede identificar la presencia de células en ciernes, hifas, blastosporas y clamidosporas. Además, la mayoría de las cepas de *C. albicans* y *C. stellatoidea* forman clamidosporas típicas después de 24 a 48 horas de incubación; asimismo, al examinar diariamente durante un máximo de cuatro días *C. dubliniensis* también formará clamidosporas, pero en grupos, en lugar de individuales como ocurre con *C. albicans*. En cuanto a las cepas de control, *Candida albicans* presenta un buen crecimiento; colonias blancas y clamidosporas mientras que otras especies como *Candida krusei* desarrollan un buen crecimiento; colonias blancas/crema, sin clamidospóra (González et al., 2022).

Respecto a los estudios de validación realizados para este agar, se reportó que la sensibilidad y la especificidad observó una sensibilidad del 100 % en la identificación de *C.albicans*, *C.tropicalis*, *C. krusei*, *C.glabrata*; una sensibilidad moderada del

70,58% en *C. parapsilosis*, así como una especificidad del 100% en *C. parapsilosis*, *C. krusei* y una especificidad del 96,77 % y del 96,42 % en *C. tropicalis* y *C. abicans* respectivamente y una especificidad del 84,21% en *C. glabrata* (Bharathi, 2018).

Agar saboraud

El agar Sabouraud es uno de los medios más antiguos y más utilizados para aislar y cultivar hongos; este, aísla selectivamente hongos de muestras ambientales como el aire y el suelo, mantiene cultivos de hongos puros y cultiva hongos para distinguir e identificar diferentes especies, especialmente dermatofitos, por color y apariencia (Acharya y Hare, 2022).

El medio Sabouraud, fue desarrollado por el dermatólogo francés Raymond JA Sabouraud en 1892, y actualmente se encuentra recomendado por la Farmacopea Europea para el aislamiento e identificación de *Candida albicans* a partir de muestras no estériles y para la preparación y mantenimiento de cepas de hongos de prueba (Chabasse y Bouchara, 2022).

En cuanto a la fórmula tradicional utilizada para este medio de cultivo, se basa en un pH bajo (5,6) para inhibir el crecimiento bacteriano; sin embargo, la adición de antibióticos al medio ácido para inhibir las bacterias es común en las versiones utilizadas actualmente. Además, la alta concentración de glucosa proporciona una ventaja para el crecimiento de hongos (osmóticamente estables), mientras que la mayoría de las bacterias no toleran la alta concentración de azúcar (Gamarra et al., 2015).

Por otra parte, respecto a su composición, este contiene peptona, la cual es el digerido enzimático de caseína y digerido enzimático de tejido animal y proporciona la

fuelle de nitrógeno y vitamina necesaria para el crecimiento del organismo en este medio de cultivo. Adicionalmente, se añade dextrosa como fuente de energía y carbono y el agar es el agente solidificante (Aryal, 2022).

2.2. Definición de términos

Levadura: Es un hongo unicelular en ciernes, que en ninguna fase de su ciclo biológico forma libremente micelios (Tofalo y Suzzi, 2015).

Clamidosporas: Son esporas asexuales solitarias, intercaladas y de paredes gruesas, no caducas, intercalares o terminales, formada por el redondeo de una célula o células cuya función principal es la perenne, no la diseminación; estas son generalmente ricas en lípidos y están bien adaptadas para mantener la viabilidad durante los períodos de latencia (Kurtzman et al., 2011).

Hifas: Son estructuras alargadas, con ramificaciones compuestas por una o más células tubulares compartimentadas por tabiques perforados, cuyo poro central permite el flujo de orgánulos y citoplasma; en levaduras, la tabicación conduce a la separación celular (Zabel y Morrell, 2020).

Pseudohifas: Son estructuras que se asemejan a células de levadura alargadas que permanecen unidas entre sí. Se distinguen de las hifas verdaderas por su método de crecimiento, fragilidad relativa y falta de conexión citoplasmática entre las células; en levaduras, son el resultado de una especie de gemación incompleta donde las células se alargan pero permanecen unidas después de la división (Lord y Vyas, 2019).

Blastosporas: Es una espore fúngica asexual, la cual se origina por medio de gemación (Zabel y Morrell, 2020).

Cepa: Es una variante genética o un subtipo de un microorganismo (p. ej., virus, bacteria u hongo) (Ghazi et al., 2022).

Medio de cultivo: es una sustancia que fomenta el crecimiento, el apoyo y la supervivencia de los microorganismos. Éste contiene nutrientes, factores que promueven el crecimiento, fuentes de energía, sales tampón, minerales, metales y agentes gelificantes (para medios sólidos) (Bonnet et al., 2020).

Hemocultivo: es una prueba que analiza muestras de sangre para detectar la presencia de gérmenes que causan enfermedades, como bacterias y hongos (Azem y Ransom, 2022).

Agar: es un componente aséptico y solidificante que se usa para crear sus medios de cultivo. El agar se mezcla con nutrientes para crear las condiciones perfectas para el desarrollo de un microorganismo (Sarhan et al., 2019).

Siembra de hongos: El cultivo o siembra de hongos se realiza comúnmente para obtener información sobre las características culturales de los hongos en un medio líquido, la morfología de la colonia y los patrones de crecimiento, etc (Shi et al., 2019).

Aislamiento (hongos): En micología, el aislamiento es una técnica para separar las poblaciones mixtas de hongos en especies individuales para su estudio (Gautam y Bhadauria, 2019).

Análisis morfológico (hongos): El análisis morfológico es un procedimiento que se realiza mediante la observación de características macroscópicas y microscópicas, así como la observación del pelotón (Gautam y Bhadauria, 2019).

Autoclave: es una máquina que usa vapor a presión para matar bacterias, virus, hongos y esporas dañinas en elementos que se colocan dentro de un recipiente a presión (Schoeb y Eaton, 2015).

Técnica de Dalmau: se utiliza para subcultivar levaduras en agar de harina de maíz. Se trata de una mejora sobre los procedimientos de sustrato fluido recomendados anteriormente para la formación de tubos germinales (Gupta et al., 2017).

III. Método

3.1. Tipo de investigación

El estudio tuvo un diseño observacional, de tipo analítico y prospectivo. Es de diseño observacional puesto que no habrá manipulación de las variables de exposición, esto quiere decir que el investigador sólo observará y registrará lo que encuentre en el análisis de las cepas recolectadas. Es de tipo analítico, porque la finalidad es analizar la comparación entre las variables de estudio para demostrar la validez de la hipótesis. Es prospectivo, porque los datos serán tomados en diferentes fases a medida que se vaya desarrollando esta investigación, mientras vaya ocurriendo el crecimiento de las cepas (Cataldo et al., 2019).

3.2. Ámbito temporal y espacial

El estudio se realizó con cepas de levaduras del género *Candida* de hemocultivos almacenados en la micoteca del Instituto Nacional de Salud del Niño en el periodo 2023

3.3. Variables

V1: Morfología de levaduras

V2: Tiempo de producción

V3: Medio de cultivo

Tabla 2*Operacionalización de variables*

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicador	Tipo de variable	Escala de medida	Valor final	Instrumento de recolección de datos
Morfología de levaduras	Características particulares de un tipo de levadura que permiten su identificación (Boekhout et al., 2021).	Características particulares de un tipo de levadura.	Presencia de Clamidiosporas observadas con el microscopio.	Categórica	Nominal	Presencia (Sí)	Ficha de recolección de datos
			Presencia de hifas observadas con el microscopio.				
			Presencia de Pseudohifas observadas con el microscopio.				
			Presencia de Blastosporas observadas con el microscopio.			Ausencia (No)	
Tiempo de producción	Tiempo de incubación para el desarrollo de estructuras fúngicas (Pote et al., 2020).	Tiempo en el cual se evidencia a la presencia de algún patrón buscado.	El tiempo será medido en horas registradas a partir de un dispositivo previamente calibrado.	Categórica	Ordinal	72 horas	Ficha de recolección de datos
						48 horas	
						24 horas	
Medio de cultivo	Preparado solido o líquido que contiene todos los nutrientes que necesitan los microorganismos (Bonnet et al., 2020).	Sustancia que fomenta el crecimiento y/o desarrollo de un determinado organismo	Elementos identificables por cada tipo de Agar	Categórica	Nominal	Agar arroz Agar harina de maíz +TWEEN 80	Ficha de recolección de datos

3.4. Población y muestra

Población del estudio

La población estuvo conformada por cepas de levaduras del género *Candida* aisladas de muestras de hemocultivos provenientes de pacientes pediátricos atendidos en el Instituto Nacional de Salud del Niño

Marco muestral

El marco muestral correspondió a 170 cepas de levaduras del género *Candida* aisladas de hemocultivos, procedentes de muestra de sangre venosa y que estuvieron almacenadas en la micoteca del Instituto Nacional de Salud del Niño en el periodo 2023.

Muestra

La muestra estuvo conformada por todos los elementos de la población, el cual incluye 170 cepas de levaduras del género *Candida* a las que el servicio de microbiología del INSN permitió acceso. Por tanto, no se desarrolló una técnica de muestreo, ya que se analizó a toda la población.

Unidad de análisis

Cepas de levaduras del género *Candida* aisladas de hemocultivos de pacientes pediátricos, que se encontraron almacenadas en la micoteca del Instituto Nacional de Salud del Niño en el periodo 2023.

Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

- Cepas de levaduras del género *Candida* aisladas de hemocultivo que se encuentren en condiciones viables para el procedimiento.
- Aquellas cepas que presenten crecimiento óptimo al ser reactivadas luego de la congelación.
- Aquellas cepas identificables fenotípicamente.

Criterios de exclusión

- Cepas contaminadas con otro tipo de levadura diferente a *Candida* al momento de la reactivación.
- Cepas de levaduras del género *Candida* aisladas de hemocultivo no viables al momento de la reactivación.

3.5. Instrumentos

Se utilizó una ficha de evaluación, la cual fue elaborada con la finalidad de documentar y organizar las observaciones realizadas sobre los microorganismos. Fueron aplicadas una para cada medio de cultivo: una para el agar arroz y otra para el agar harina de Maíz + Tween 80. En cada una de estas, se presentaron tablas de doble entrada; en la primera columna se codificó cada cepa evaluada; mientras que, en el encabezado de las filas se posicionaron las estructuras morfológicas necesarias para la identificación de las especies de *Candida*: Clamidiosporas, hifas, pseudohifas y blastosporas, de manera que el investigador pudo documentar si cada cepa evaluada presentaba (Sí) o no presentaba (No) las diferentes estructuras marcando el cuadro

correspondiente. Cabe resaltar que, se aplicó una ficha de evaluación para cada hora de observación asignado, ya sea a las 24 horas, 48 horas o 72 horas de incubación de la cepa.

3.6. Procedimientos

Procedimiento administrativo

Se realizaron los trámites administrativos necesarios para contar con los permisos y autorización de las jefaturas correspondientes para la ejecución del presente estudio.

Procedimiento Técnico

Para la preparación del presente estudio se reactivaron 170 cepas de levaduras del género *Candida* aisladas en hemocultivos (cultivos de sangre) conservadas en la micoteca del Instituto Nacional de salud del niño durante el periodo 2023.

Las cepas reactivadas fueron inoculadas en agar papa dextrosa que estuvieron dispensadas en placas de Petri, asimismo se incubaron en atmosfera aeróbica a 25 °C durante 24 o 48 horas para poder contar con cepas jóvenes totalmente activas.

Posteriormente se tomó una "asada" de cada cepa en estudio para ser inoculadas en placas de Petri preparadas con los medios de cultivo de Agar Harina de maíz + tween 80 y Agar arroz, respectivamente.

La metodología utilizada para la preparación del Agar Harina de maíz + tween 80; se pesaron 40 gramos de Harina de maíz y se disolvió en 1 litro de agua destilada y se calentó por una hora a 65°C; la infusión obtenida se filtró a través de una gasa y luego con papel filtro Whatman n°2, a la solución obtenida filtrada se agregaron 20 gramos de Agar-Agar y se hirvió hasta disolverlo; por último, se agregaron 10 mililitros de tween 80 y se colocó en una autoclave para su esterilización durante 15 minutos a 121 °C. Para el Agar Arroz se pesaron 200 gramos

de arroz no fortificado, se disolvió en 1 litro de agua destilada y se hirvió por 5 minutos; posteriormente, se filtraron a través de una gasa para luego agregar 20 gramos de Agar-Agar. Finalmente, la infusión obtenida se colocó en una autoclave para su esterilización durante 15 minutos a 121°C. Estos procedimientos se encuentran estandarizados en el “Manual de Procedimientos Técnicos del Servicio de Microbiología con resolución directoral N° 208 - 2016 del Instituto nacional de salud del niño (INSN)”.

Finalmente, ambos medios de cultivo preparados pasaron por un proceso de control de calidad, que consistió en el control de la esterilidad que se realizó incubando el 10% del lote preparado a 35 °C y el control de performance del medio de cultivo que se realizó con la evaluación de cepas ATCC (cepas de referencia).

Las 170 cepas de levaduras reactivadas fueron inoculadas en el Agar Harina de maíz + tween 80 y, de igual manera, las 170 cepas en el Agar arroz, utilizando la técnica de Dalmau, que consiste en tomar con una aguja de inoculación las colonias a probar, se realizaron dos estrías aproximadamente de 1,5 cm de longitud separadas de 1 cm, sin excavar el medio de cultivo. Posteriormente, se cubrió el preparado con una laminilla cubreobjetos, previamente flameada y enfriada. Tal cual esta descrito y estandarizado en el manual de procedimientos técnicos del servicio de microbiología ya mencionado. Finalmente, fueron incubados en atmosfera aeróbica a 25 °C por un periodo de hasta 72 horas.

Para la recolección de los datos, se utilizó la ayuda de un microscopio óptico utilizando el lente que proporcionará un aumento de 40x, en donde se observaron diariamente las características morfológicas presentes de cada cepa de levadura. Dicha característica morfológica permitió diferenciar e identificar el tipo de especie de levadura del género *Candida*. Se anotó y recopiló la información obtenida en la ficha de recolección de datos que se adjunta en el apartado de anexos del presente protocolo.

Para el análisis de los resultados, se creó una base de datos para el procesamiento de los resultados obtenidos. Previamente, se realizó una limpieza de datos en el programa Microsoft Excel. Posteriormente, se realizó un control de calidad para buscar datos no plausibles o incompletos, lo que permitió resolver estas inconsistencias con una nueva verificación de las fichas para las correcciones respectivas; todo dato no encontrado o validado, fue considerado un valor perdido (missing value).

Identificación de sesgos y limitaciones

- Existió la posibilidad de que haya errores en el registro de información durante el proceso de doble digitación en la base de datos. Por lo que, el investigador realizó un proceso de limpieza de bases de datos con el que se podrá identificar errores durante el vaciado de datos.

- Existió la posibilidad de que haya un sesgo de información al momento de la identificación de las estructuras morfológicas de las levaduras de los medios de cultivo estudiados. Sin embargo, el observador contó con el apoyo de un profesional experto en la especialidad para su revisión y acompañamiento, durante este proceso de identificación.

3.7. Análisis de datos

Se utilizó el software SPSS versión 28.0.1, se trabajó con un nivel de confianza de un 95% y se consideró significativo a los valores $p < 0,05$.

Análisis descriptivo

Para el análisis de las variables categóricas se presentaron frecuencias absolutas y relativas utilizando tablas simples y contingencia, además de gráficos de barras. No fue

necesario realizar un análisis de la normalidad debido a que no se cuentan con variables numéricas.

Análisis bivariado

Para las variables categóricas se utilizaron las pruebas de Chi-cuadrado de independencia o la prueba exacta de Fischer dependiendo del cumplimiento de los supuestos de frecuencias esperadas de la regla de Cochran. Para la comparación de diferentes momentos en el tiempo para el mismo agar, se utilizó la prueba de Q-Cochran.

3.8. Consideraciones éticas

El presente trabajo fue sometido para su aprobación por el comité de ética del Instituto Nacional de Salud del niño. No ameritó consentimientos informados ya que no se trabajó con sujetos humanos, por lo tanto, no aplicó algún riesgo de confidencialidad y/o respeto de seres humanos en la investigación.

IV. Resultados

En primer lugar, se presentan los resultados descriptivos generales para ambos medios de cultivo por cada intervalo de tiempo, estos fueron obtenidos en base a, número de cepas que fue posible identificar para cada período de tiempo indicado, según las características morfológicas consideradas en la determinación de especies de *Candida*. En este sentido se observó que a las 24 horas se pudo identificar el 19,41% de las cepas utilizando agar harina de maíz +TWEEN 80 como medio de cultivo y el 43, 53% de cepas con agar arroz. Asimismo, a las 48 horas se pudo identificar el 72,94% con agar harina de maíz y el 75,29% con agar arroz y, finalmente, luego de 72 horas, se logró identificar 169 cepas de un total de 170 (99,41%) utilizando el agar harina de maíz + TWEEN 80 como medio de cultivo y el 90,58% del total de cepas utilizando agar arroz. Estos hallazgos sirven para consolidar lo propuesto por el objetivo general, en donde se busca comparar tanto las características morfológicas, como el tiempo de producción en ambos medios de diferenciación.

Lo descrito, se resume en la siguiente tabla:

Tabla 3

Número de cepas identificadas por intervalo de tiempo para cada medio de cultivo

Medio de cultivo Tiempo	Agar harina de maíz + TWEEN 80		Agar arroz	
	Recuento	Porcentaje	Recuento	Porcentaje
24 horas	33	19,41%	74	43,53%
48 horas	124	72,94%	128	75,29%
72 horas	169	99,41%	154	90,58%
Total de cepas	170	100%	170	100%

Por otra parte, los siguientes hallazgos muestran una comparación descriptiva de las características morfológicas y el tiempo de producción entre el agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*, profundizando en las características morfológicas para cada especie, resultados que, de igual forma, respaldan al objetivo general planteado. En consecuencia, se observó las características morfológicas producidas por las diferentes cepas de *C. albicans* según el tiempo transcurrido para cada medio de cultivo; de manera que, de un total de 64 cepas de *C. albicans*, a las 24 horas se obtuvo que 54 cepas (84,38%) produjeron clamidosporas en el medio de cultivo agar arroz y solo 24 cepas (37,5%) en el medio agar harina de maíz + TWEEN 80. Asimismo, a las 24 horas, 63 cepas (98,4375%) produjeron hifas en el medio agar arroz y 57 cepas (89,0625%) en el medio agar harina de maíz + TWEEN 80. De igual manera, se observa que, a las 48 horas, en el medio de cultivo agar arroz, el 100% de las cepas de *C. albicans* ya habían generado las blastosporas, mientras que en el medio agar harina de maíz + TWEEN 80, solo 62 cepas (96,875%) habían producido estas estructuras. Finalmente, se evidencia que, a las 72 horas, el 100% de las cepas de *C. albicans* habían producido todas las características morfológicas evaluadas (clamidosporas, hifas, pseudohifas y blastosporas) para el medio de cultivo agar harina de maíz + TWEEN 80.

Lo mencionado se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 4

Características morfológicas y el tiempo de producción entre el agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación de Candida albicans

<i>Candida albicans</i>								
Característica morfológica	Clamidosporas		Hifas		Pseudohifas		Blastosporas	
Medio de cultivo	Agar arroz	Agar harina de maíz + TWEEN 80	Agar arroz	Agar harina de maíz + TWEEN 80	Agar arroz	Agar harina de maíz + TWEEN 80	Agar arroz	Agar harina de maíz + TWEEN 80
Tiempo	Frecuencia/ Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)
24 horas	54 (84,38%)	24 (37,5%)	63 (98,4375%)	57 (89,0625%)	63 (98,4375%)	63 (98,4375%)	60 (93,75%)	41 (64,0625%)
48 horas	62 (96,88%)	54 (84,375%)	63 (98,4375%)	63 (98,4375%)	63 (98,4375%)	63 (98,4375%)	64 (100%)	62 (96,875%)
72 horas	62 (96,88%)	64 (100%)	63 (98,4375%)	64 (100%)	63 (98,4375%)	64 (100%)	64 (100%)	64 (100%)

Por otro lado, en el caso de las cepas de *Candida glabrata*, se observó que la única característica morfológica generada en las cepas de *C. glabrata* fueron las blastosporas; de manera que, para ambos medios de cultivo, tanto para el agar arroz como para el agar harina de maíz + TWEEN 80, el 100% de las cepas en cuestión produjeron blastosporas desde las primeras 24 horas y esta única característica se mantuvo para los dos siguientes horarios evaluados; tanto para las 48 horas como para las 72 horas del cultivo.

Tabla 5

Características morfológicas y el tiempo de producción entre el agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación de Candida glabrata

<i>Candida glabrata</i>		
Característica morfológica	Blastosporas	
Medio de cultivo	Agar arroz	Agar harina de maíz + TWEEN 80
Tiempo	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)
24 horas	6 (100%)	6 (100%)
48 horas	6 (100%)	6 (100%)
72 horas	6 (100%)	6 (100%)

En el caso de *C. parapsilosis* se observaron las características morfológicas producidas por las diferentes cepas de según el tiempo transcurrido para cada medio de cultivo; de manera que, de un total de 41 cepas de *C. parapsilosis*, a las 24 horas se obtuvo que 28 cepas (68,2927%) produjeron hifas en el medio de cultivo agar arroz y solo 14 cepas (34,1463%) en el medio agar harina de maíz + TWEEN 80. Asimismo, a las 24 horas, 38 cepas (92,683%) produjeron pseudohifas en el medio agar arroz y 37 cepas (90,2439%) en el medio agar harina de maíz + TWEEN 80. De igual manera, se observa que, a las 48 horas, en el medio de cultivo agar harina de maíz + TWEEN 80, el 100% de las cepas de *C. parapsilosis* ya habían generado las pseudohifas, mientras que en el medio agar arroz, 38 cepas (92,683%) habían producido estas estructuras. Finalmente, se evidencia que, a las 72 horas, el 100% de las cepas de *C. parapsilosis* habían producido las características morfológicas de hifas y pseudohifas para el medio de cultivo agar harina de maíz + TWEEN 80. Cabe resaltar, que para el medio agar arroz, desde las primeras 24 horas se evidenció la presencia de clamidosporas, aunque en una cantidad mínima de cepas (2,439%), evento que no se observó con el agar harina de maíz.

Tabla 6

Características morfológicas y el tiempo de producción entre el agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación de Candida parapsilosis

<i>Candida parapsilosis</i>								
Característica morfológica	Clamidosporas		Hifas		Pseudohifas		Blastosporas	
Medio de cultivo	Agar arroz	Agar harina de maíz + TWEEN 80	Agar arroz	Agar harina de maíz + TWEEN 80	Agar arroz	Agar harina de maíz + TWEEN 80	Agar arroz	Agar harina de maíz + TWEEN 80
Tiempo	Frecuencia/ Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)
24 horas	1 (2,439%)	-	28 (68,2927%)	14 (34,1463%)	38 (92,683%)	37 (90,2439%)	11 (26,829%)	8 (19,5121%)
48 horas	1 (2,439%)	-	37 (90,2439%)	37 (90,2439%)	38 (92,683%)	41 (100%)	22 (53,6585%)	21 (51,2195%)
72 horas	2 (4,878%)	-	38 (92,683%)	41 (100%)	40 (97,561%)	41 (100%)	39 (95,1219%)	40 (97,561%)

Asimismo, para la evaluación de cepas de *C. tropicalis* se observaron las características morfológicas producidas por las diferentes cepas según el tiempo transcurrido para cada medio de cultivo; de manera que, de un total de 59 cepas de *C. tropicalis*, a las 24 horas se obtuvo que 34 cepas (57,627%) produjeron hifas en el medio de cultivo agar arroz y 33 cepas (55,9322%) en el medio agar harina de maíz + TWEEN 80. Asimismo, a las 24 horas, 58 cepas (98,305%) produjeron pseudohifas tanto en el medio agar arroz como en el medio agar harina de maíz + TWEEN 80. De igual manera, se observó que, a las 48 horas, en el medio de cultivo agar harina de maíz + TWEEN 80, el 100% de las cepas de *C. tropicalis* ya habían generado las pseudohifas, al igual que en el medio agar arroz, en el cual; además, el 100% de las cepas habían producido hifas. Finalmente, se evidenció que, a las 72 horas, el 100% de las cepas de *C. tropicalis* habían producido las características morfológicas de hifas, pseudohifas y blastosporas para el medio de cultivo agar harina de maíz + TWEEN 80 y el 100% de las cepas habían producido hifas y pseudohifas para el medio agar arroz. Cabe resaltar, que para el medio agar arroz, desde las primeras 24 horas se evidenció la presencia de clamidosporas, aunque en una cantidad mínima de cepas (5,085%), evento que no se observó con el agar harina de maíz.

Lo mencionado, se resume en la siguiente tabla presentada:

Tabla 7

Características morfológicas y el tiempo de producción entre el agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación de Candida tropicalis

<i>Candida tropicalis</i>								
Característica morfológica	Clamidosporas		Hifas		Pseudohifas		Blastosporas	
Medio de cultivo	Agar arroz	Agar harina de maíz + TWEEN 80	Agar arroz	Agar harina de maíz + TWEEN 80	Agar arroz	Agar harina de maíz + TWEEN 80	Agar arroz	Agar harina de maíz + TWEEN 80
Tiempo	Frecuencia/ Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)	Frecuencia Porcentaje (%)
24 horas	3 (5,085%)	-	34 (57,627%)	33 (55,9322%)	58 (98,305%)	58 (98,305%)	33 (55,932%)	13 (22,033%)
48 horas	7 (11,86%)	-	59 (100%)	58 (98,305%)	59 (100%)	59 (100%)	48 (81,3559%)	45 (76,271%)
72 horas	7 (11,86%)	-	59 (100%)	59 (100%)	59 (100%)	59 (100%)	58 (98,305%)	59 (100%)

Todos los hallazgos presentados hasta ahora son netamente descriptivos, ya que se presentan porcentajes de la producción de estructuras morfológicas para cada caso de las respectivas especies de *Candida* mencionadas y apoyan la resolución del objetivo general del estudio; sin embargo, el análisis estadístico bivariado, se realizó en base a la prueba de Chi cuadrado para comparar las diferencias significativas entre los dos agares como medio de diferenciación de las levaduras del género *Candida*, de acuerdo a la producción de estructuras, de manera que, se evaluó el número de cepas identificadas con cada agar pasado el tiempo total de evaluación; es decir, luego de las 72 horas. De esta forma, se plantearon las siguientes hipótesis estadísticas:

Ho: No existen diferencias significativas entre el agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*.

Hi: Sí existen diferencias significativas entre el agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*.

Frente a ello, se realizó la prueba de chi cuadrado, con la cual, se obtuvo que el valor de significancia de Chi- cuadrado es menor a 0,05; por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que sí existen diferencias significativas entre el agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*.

Tabla 8

Prueba de chi- cuadrado de independencia

Pruebas de chi-cuadrado			
	Valor	df	Significación asintótica (bilateral)
Chi-cuadrado de Pearson	747,430 ^a	9	,000
Razón de verosimilitud	765,001	9	,000
Asociación lineal por lineal	281,289	1	,000
N de casos válidos	510		
a. 1 casillas (6,3%) han esperado un recuento menor que 5. El recuento mínimo esperado es 4,79.			

Asimismo, en relación a la comparación del tiempo de producción de estructuras morfológicas de las levaduras entre agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80, se planteó el estadístico Q de Cochran, con el que se evaluaron las siguientes hipótesis estadísticas, primero para el agar harina de maíz + Tween 80.

H₀: No existen diferencias significativas entre los diferentes momentos en el tiempo para el agar harina de maíz + Tween 80.

Hi¹: Sí existen diferencias significativas entre los diferentes momentos en el tiempo para el agar harina de maíz + Tween 80.

Con esta, se encontró que el valor de significancia de la prueba Q- Cochran es menor a 0,05; por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que sí existen diferencias significativas entre los diferentes momentos de tiempo evaluados (24 horas, 48 horas y 72 horas) para el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*.

Tabla 9

Prueba de Q-Cochran para la comparación de diferentes momentos en el tiempo para el agar harina de maíz + Tween 80

Estadísticos de prueba	
N	170
Q de Cochran	211,779 ^a
gl	2
Sig. asintótica	,000
a. 0 se trata como un éxito.	

De igual manera, para el agar arroz, se planteó la comparación de las evaluaciones para cada uno de los intervalos de tiempo, de acuerdo a las cepas identificadas en cada periodo, por lo que se plantearon las hipótesis:

Ho: No existen diferencias significativas entre los diferentes momentos para el tiempo en el agar arroz.

Hi²: Sí existen diferencias significativas entre los diferentes momentos para el tiempo en el agar arroz.

Con ello, se obtuvo que el valor de significancia de la prueba Q- Cochran es menor a 0,05; por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula y se concluye que sí existen diferencias significativas entre los diferentes momentos de tiempo (24 horas, 48 horas y 72 horas) para el agar arroz como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*.

Tabla 10

Prueba de Q-Cochran para la comparación de diferentes momentos en el tiempo para el agar arroz

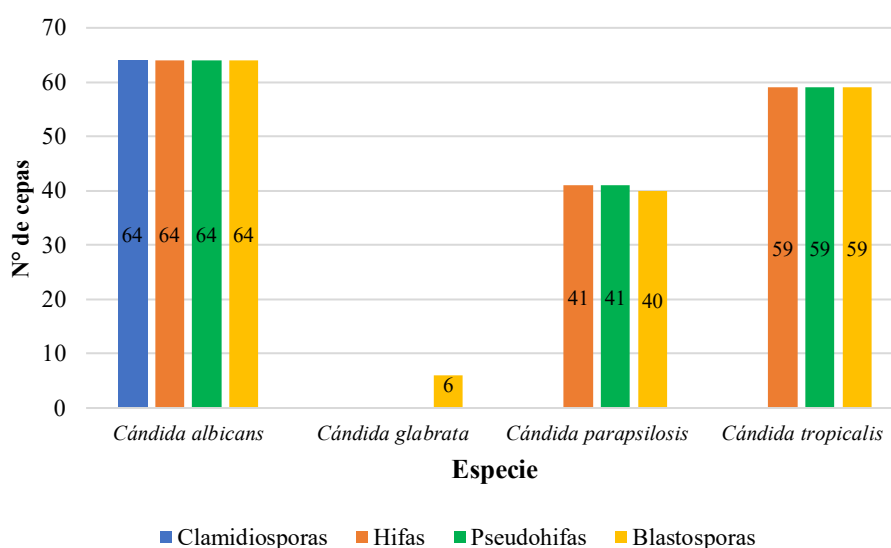
Estadísticos de prueba	
N	170
Q de Cochran	120,386 ^a
gl	2
Sig. asintótica	,000
a. 1 se trata como un éxito.	

Por otra parte, para el primer objetivo específico de identificar las características morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar harina de maíz + tween 80 como medio de cultivo, se presentan los siguientes hallazgos; se consideró las características morfológicas desarrolladas por las diferentes cepas de cada especie del género *Candida* utilizando agar harina de maíz + TWEEN 80 como medio de cultivo al finalizar el ensayo, es decir, pasadas las 72 horas. Se observó que, la especie *C. albicans* presentó todas las estructuras: clamidosporas, hifas, pseudohifas y blastosporas en todas las cepas evaluadas; mientras que, *C. glabrata* solo desarrolló blastosporas en todas sus cepas. Por otra parte, *C. parapsilosis* presentó hifas, pseudohifas y blastosporas, las dos primeras en la totalidad de las cepas evaluadas y las blastosporas en 40 cepas de un total de 41. Asimismo, para *C. tropicalis*,

se desarrollaron las características morfológicas de hifas, pseudohifas y blastosporas en todas las cepas de esta especie.

Figura 1

Características morfológicas por especie en agar harina de maíz + TWEEN 80



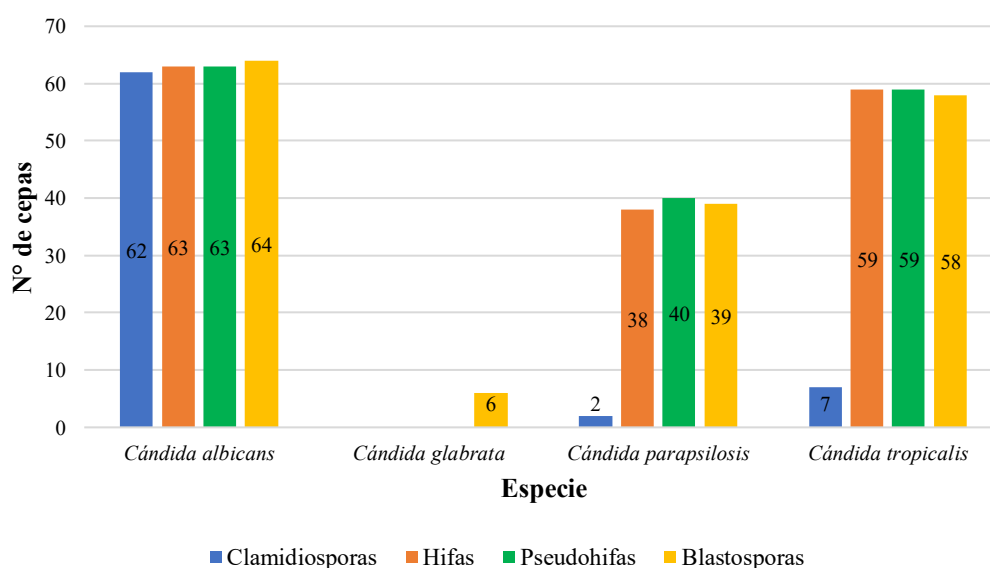
Asimismo, para el segundo objetivo específico de identificar las características morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar arroz como medio de cultivo, se obtuvo las características morfológicas desarrolladas por las diferentes cepas de cada especie del género *Candida* utilizando agar arroz como medio de cultivo al finalizar el ensayo, es decir, pasadas las 72 horas. Se encontró que, la especie *C. albicans* presentó todas las estructuras: clamidiosporas, hifas, pseudohifas y blastosporas en 62, 63, 63 y 64 cepas respectivamente de un total de 64 cepas evaluadas para esta especie; mientras que, *C. glabrata* solo desarrolló blastosporas en todas sus cepas. Por otra parte, *C. parapsilosis* presentó hifas, pseudohifas y blastosporas, en 38, 40 y 39 cepas de un total de 41 cepas; además, presentó clamidiosporas en 2 cepas. Asimismo, para *C. tropicalis*, se desarrollaron las características morfológicas de hifas,

pseudohifas en todas las cepas de esta especie, además de blastosporas en 58 cepas de un total de 59 y clamidiosporas solo en 7 cepas.

Lo descrito se muestra en la siguiente figura de barras:

Figura 2

Características morfológicas por especie en agar arroz

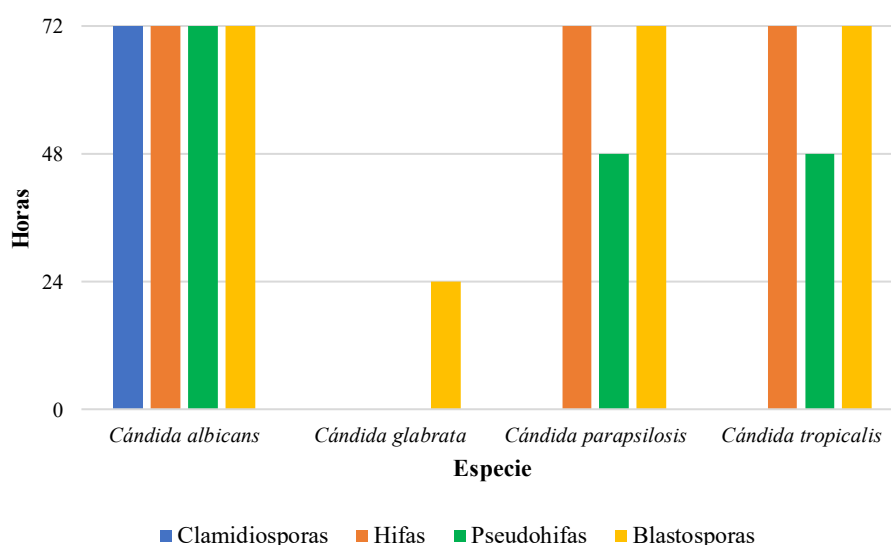


Por otra parte, en cuanto al tercer objetivo específico de medir el tiempo de producción de estructuras morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar harina de maíz + TWEEN 80 como medio de cultivo, se obtuvo el tiempo en el cual se produjeron las estructuras morfológicas para cada especie del género *Candida* evaluada en el medio agar harina de maíz + TWEEN 80. Se consideró el tiempo en el cual la totalidad de las cepas o el mayor número de estas mostraron las respectivas características morfológicas. De manera que, las estructuras morfológicas de *C. albicans* tuvieron un tiempo de 72 horas para la producción de todas sus estructuras morfológicas; por su parte, *C. glabrata*, que solo presenta blastosporas, manifestó dichas estructuras desde las primeras 24 horas. Por otra parte, *C. parapsilosis* demoró 72 horas para la producción de hifas y blastosporas y 48 horas para la producción de pseudohifas. De

igual manera, *C. tropicalis* tardó 72 horas para la producción de hifas y blastosporas y 48 horas para la producción de pseudohifas. Lo cual se puede apreciar de manera resumida en la siguiente figura:

Figura 3

Tiempo de producción de estructuras morfológicas de las levaduras del género Candida en agar harina de maíz + tween 80

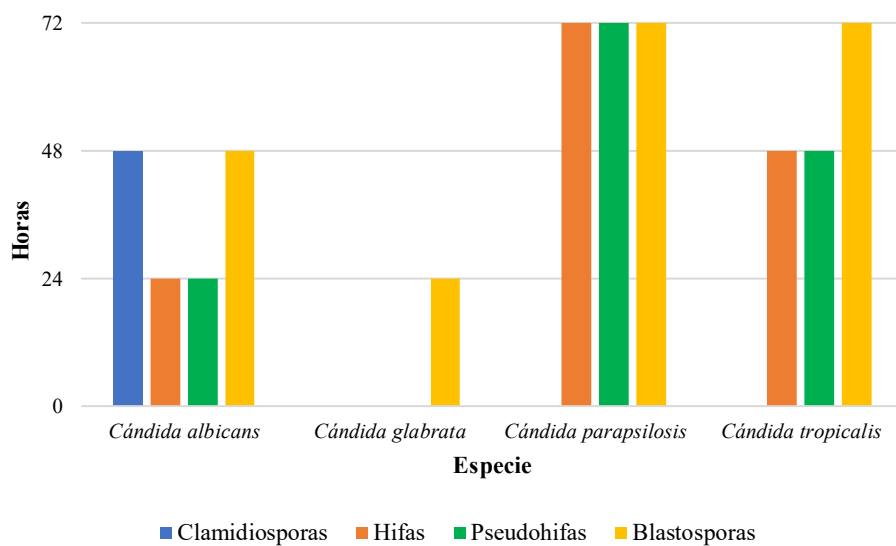


Finalmente, en cuanto al cuarto objetivo específico que busca medir el tiempo de producción de estructuras morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar arroz como medio de cultivo, se obtuvo el tiempo en el cual se produjeron las estructuras morfológicas para cada especie del género *Candida* evaluada en el medio agar arroz. De manera que, las estructuras morfológicas de *C. albicans*, hifas y pseudohifas tuvieron un tiempo de 24 horas para su producción y las clamidiosporas y blastosporas un tiempo de 48 horas; por su parte, *C. glabrata*, que solo presenta blastosporas, manifestó dichas estructuras desde las primeras 24 horas. Por otra parte, *C. parapsilosis* demoró 72 horas para la producción de todas sus estructuras morfológicas. Asimismo, *C. tropicalis* tardó 72 horas para la producción de blastosporas y 48 horas para la producción de hifas y pseudohifas.

Lo mencionado, es detallado en la figura presentada a continuación:

Figura 4

Tiempo de producción de estructuras morfológicas de las levaduras del género Candida en agar arroz



V. Discusión de resultados

De acuerdo a lo planteado por el objetivo general del estudio, los resultados encontrados determinaron que, tanto el medio de cultivo agar arroz como el agar harina de maíz + tween 80 fueron efectivos para la identificación de especies del género *Candida*; sin embargo, de manera general se puede distinguir una mayor cantidad de cepas identificadas con el agar harina de maíz + Tween 80, aunque el agar arroz permitió la identificación de cepas en un menor intervalo de tiempo. Esto se debe, probablemente a que el principal componente del maíz es el almidón, que representa alrededor del 70 % del peso del grano, mientras que el almidón de arroz oscila entre el 85 y el 90 % del peso seco del arroz, *Candida* spp. utilizan el contenido nutricional en los medios de agar harina de maíz y los medios de agar de arroz para crecer y desarrollarse mediante la fermentación del almidón que se encuentra en estos medios (Rachmawati, 2020).

Además, igualmente, en relación al objetivo general que busca comparar las características morfológicas y el tiempo de producción entre agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*, se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre un agar y otro; estos resultados difieren con lo hallado por Rachmawati et al. (2022), quienes concluyeron que no hay diferencias significativas en las características macroscópicas y microscópicas de *Candida albicans* en los medios de agar harina de maíz confeccionado, agar arroz, por lo que puede decirse que los medios estudiados son sensibles como medios alternativos para la identificación de *Candida albicans*. No obstante, se debe tener en cuenta que la mencionada investigación solo evaluó la sensibilidad de estos medios de cultivo para la identificación de cepas de *Candida albicans*, mientras que el presente estudio abarca hasta 4 especies diferentes de levaduras del género *Candida*, por lo que fue posible identificar diferencias.

Asimismo, en cuanto al primer objetivo específico, que propone identificar las características morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar harina de maíz + tween 80 como medio de cultivo, los resultados presentados indican que el 99,41% de las cepas de especies de *Candida* pudieron ser identificadas en el medio agar harina de maíz + TWEEN 80 a las 72 horas y el 95,29% de las cepas pudieron ser identificadas en el medio agar arroz a las 72 horas; resultados que coinciden parcialmente con la evidencia reportada por Joshi et al. (1993), quienes en un estudio comparativo para la identificación de 32 cepas conocidas de especies de *Candida* sobre la base de la morfología en agar de extracto de arroz y agar de harina de maíz con y sin Tween 80 se reveló que cuando se incorpora Tween 80 en los medios, la identificación es posible en un 96,8 % de la especie dentro de las 48 horas en agar extracto de arroz y para el 90,6% de las especies en agar glucosa. A diferencia de la presente investigación, en donde a las 48 horas solo se pudo identificar un 72,94% en el medio agar harina de maíz + tween 80 y 79, 41% en el agar arroz. Si bien en el estudio de Joshi et al. (1993) se requirió un menor tiempo para la identificación de las cepas, se debe considerar que el tamaño muestral fue mucho menor (32 cepas) al utilizado en el presente estudio (170 cepas).

Por otra parte, en cuanto al segundo objetivo específico, que plantea identificar las características morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar arroz como medio de cultivo, en relación a la producción de estructuras morfológicas, los resultados encontrados mostraron una mayor producción de clamidosporas para *C. albicans* en el medio agar harina de maíz, a diferencia de lo hallado en el estudio de Joshi et al. (1993), el cual encontró que las clamidosporas se produjeron más en agar de extracto de arroz que en agar harina de maíz. No obstante, es importante mencionar que, para el medio agar arroz, se observó la formación de clamidosporas tanto en *C. parapsilosis* como en *C. tropicalis*; según la literatura, esto podría deberse debido a condiciones desfavorables como un cultivo carente de oxígeno, lo cual puede estimular la producción de estas estructuras (Wanger et al., 2017). Además, es importante

mentonar que este hecho también se evidenció en estudios como el de Walker y Huppert (1960), quienes señalaron no solo todos los cultivos de *C. albicans* produjeron abundantes clamidosporas en agar Tween de harina de maíz y en agar Tween de arroz, sino que también lo hicieron en algunos cultivos de *C. tropicalis*; sin embargo, el presente ensayo no adicionó Tween 80 en el agar arroz como se hizo en la mencionada investigación, por lo que no coincide la técnica utilizada.

Finalmente, otra característica observada fue que, en el tiempo de producción de clamidosporas para *C. albicans*, lo cual se aborda en el tercer y cuarto objetivo específico, los cuales buscan medir el tiempo de producción de estructuras en ambos agares, los resultados muestran que se dio con mayor velocidad en el medio agar arroz, ya que desde las primeras 24 horas, el 84,34% de las cepas ya presentaban dichas estructuras morfológicas y en el agar harina de maíz + TWEEN 80 solo el 37,5% de las cepas las produjeron. Esto difiere de lo reportado por diversos estudios, tales como el de Gupta et al. (2019), quienes concluyeron que el uso de agar de harina de maíz con 1 por ciento de Tween 80 da los mejores resultados para la producción rápida y cuantitativamente mayor de clamidosporas de *C. albicans*. De igual manera, en su investigación Walker y Huppert (1960), demostraron que el agar harina de maíz + Tween 80 era superior a los otros medios para la producción del crecimiento micelial característico en *C. albicans* en un menor tiempo; ello debido a la adición de tween 80 a medios mixtos de agar de maíz, lo cual estimula la formación de clamidosporas debido a su contenido de ácido oleico.

VI. Conclusiones

- 6.1** En cuanto al objetivo general, que buscó comparar las características morfológicas y el tiempo de producción entre agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*, los resultados indican que sí existen diferencias estadísticamente significativas entre el agar arroz y el agar harina de maíz + Tween 80 como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*. Además, el 99,41% del total de las cepas pudieron identificarse con agar harina de maíz + Tween a las 72 horas; mientras que, con el agar arroz se identificó al 90,58% de las cepas.
- 6.2** En lo que respecta al primer objetivo específico, las características morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar harina de maíz + tween 80 como medio de cultivo identificadas fueron, para *C. albicans* presentó todas las estructuras en todas las cepas evaluadas; mientras que, *C. glabrata* solo desarrolló blastosporas en todas sus cepas; *C. parapsilosis* presentó hifas, pseudohifas y blastosporas y, en *C. tropicalis*, se desarrollaron las características morfológicas de hifas, pseudohifas y blastosporas en todas las cepas de esta especie.
- 6.3** En relación al segundo objetivo específico, las características morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar arroz como medio de cultivo identificadas fueron, en *C. albicans* presentó todas las estructuras, pero no en la totalidad de las cepas evaluadas para esta especie; *C. glabrata* solo desarrolló blastosporas en todas sus cepas; *C. parapsilosis* presentó hifas, pseudohifas y blastosporas pero no en todas sus cepas; además, presentó clamidosporas en 2 cepas; *C. tropicalis*, desarrolló hifas, pseudohifas en todas las cepas de esta especie, blastosporas en casi todas sus cepas y clamidosporas solo en 7 cepas.
- 6.4** En relación al tercer objetivo específico, se obtuvo que el tiempo de producción de estructuras morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar harina de maíz + tween 80 como medio de cultivo fue de 72 horas para todas las estructuras de *C. albicans*;

24 horas para blasposporas en *C. glabrata*; 72 horas en blastosporas e hifas y 24 horas en pseudohifas en *C. parapsilosis* y 72 horas en blastosporas e hifas y 24 horas en pseudohifas en *C. tropicalis*.

6.5 Finalmente, según el cuarto objetivo específico, los resultados revelaron que el tiempo de producción de estructuras morfológicas de las levaduras del género *Candida* en agar arroz como medio de cultivo fue de 24 horas para hifas y pseudohifas y 72 horas para blastosporas y clamidiosporas en *C. albicans*; 24 horas para blasposporas en *C. glabrata*; 72 horas en blastosporas, hifas y pseudohifas en *C. parapsilosis* y 48 horas en hifas y pseudohifas y 72 horas en blastosporas en *C. tropicalis*.

VII. Recomendaciones

- 7.1** En base a los resultados derivados del objetivo principal, se recomienda promover el uso tanto del agar harina de maíz + Tween 80 como el agar arroz como medios de diferenciación para levaduras del género *Candida*, para identificar y diferenciar cepas de *Candida* en futuras investigaciones.
- 7.2** Para el primer objetivo específico relacionado con las características morfológicas en agar harina de maíz + Tween 80, se recomienda utilizar este medio de cultivo para la identificación de levaduras del género *Candida*, ya que permitió desarrollar todas las estructuras en *C. albicans*, blastosporas en *C. glabrata*, hifas, pseudohifas y blastosporas en *C. parapsilosis*, e hifas, pseudohifas y blastosporas en *C. tropicalis*.
- 7.3** En relación al segundo objetivo específico sobre las características morfológicas en agar arroz, se sugiere utilizar este medio de cultivo en casos específicos. En *C. albicans*, se observaron todas las estructuras en algunas cepas, lo que indica que podría ser útil para la identificación de algunas variantes de esta especie. Sin embargo, el agar harina de maíz + Tween 80 sigue siendo preferible para la mayoría de las cepas de *C. albicans* y otras especies.
- 7.4** Para el tercer objetivo específico sobre el tiempo de producción de estructuras morfológicas en agar harina de maíz + Tween 80, se recomienda realizar la observación a las 72 horas, ya que todas las estructuras de *C. albicans* y *C. parapsilosis*, así como las blastosporas, hifas y pseudohifas de *C. tropicalis*, se desarrollaron en ese período.
- 7.5** En relación al cuarto objetivo específico sobre el tiempo de producción de estructuras morfológicas en agar arroz, se sugiere realizar la observación a las 72 horas para garantizar la identificación adecuada de blastosporas en *C. albicans*, blastosporas e hifas en *C. parapsilosis*, y blastosporas en *C. tropicalis*. Sin embargo, para la detección temprana de

hifas y pseudohifas en *C. albicans*, e hifas y pseudohifas en *C. tropicalis*, se recomienda realizar la observación a las 24 horas.

VIII. Referencias

- Aarstehfar, A., Daneshnia, F., Kord, M., Roudbary, M., Zarrinfar, H., Fang, W., Hashemi, S., Najafzadeh, M., Khodavaisy, S., Pan, W., Liao, W., Badali, H., Rezaie, S., Zomorodian, K., Hagen, F., y Boekhout, T. (2019). Comparison of 21-Plex PCR and API 20C AUX, MALDI-TOF MS, and rDNA sequencing for a wide range of clinically isolated yeast species: Improved identification by combining 21-Plex PCR and API 20C AUX as an alternative strategy for developing countries. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 9(21), 1–9.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00021>
- Acharya, T., y Hare, J. (2022). Sabouraud Agar and Other Fungal Growth Media. In V. Gupta y M. Tuohy (Eds.), *Laboratory Protocols in Fungal Biology. Fungal Biology* (pp. 69–86). Springer, Cham.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-83749-5_2
- Ahrendt, S. R., Quandt, C. A., Ciobanu, D., Clum, A., Salamov, A., Andreopoulos, B., Cheng, J. F., Woyke, T., Pelin, A., Henrissat, B., Reynolds, N. K., Benny, G. L., Smith, M. E., James, T. Y., y Grigoriev, I. V. (2018). Leveraging single-cell genomics to expand the fungal tree of life. *Nature Microbiology*, 3(12), 1417–1428.
<https://doi.org/10.1038/s41564-018-0261-0>
- Angeletti, S. (2017). Matrix assisted laser desorption time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical microbiology. *Journal of Microbiological Methods*, 138, 20–29. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2016.09.003>
- Arastehfar, A., Daneshnia, F., Najafzadeh, M., Hagen, F., Mahmoudi, S., Salehi, M., Zarrinfar, H., Namvar, Z., Zareshahrabadi, Z., Khodavaisy, S., Zomorodian, K., Pan, W., Theelen, B., Kostrzewa, M., Boekhout, T., y Lass-Flörl, C. (2020). Evaluation of Molecular Epidemiology, Clinical Characteristics, Antifungal Susceptibility Profiles, and Molecular

- Mechanisms of Antifungal Resistance of Iranian *Candida parapsilosis* Species Complex Blood Isolates. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10(206), 1–13.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00206>
- Arya, N., y Naureen, B. (2022). *Candidiasis*. StatPearls.
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560624/>
- Aryal, S. (2022). *Sabouraud Dextrose Agar (SDA) – Composition, Principle, Uses, Preparation and Colony Morphology*. Microbiology Info.Com.
<https://microbiologyinfo.com/sabouraud-dextrose-agar-sda-composition-principle-uses-preparation-and-colony-morphology/>
- Aslani, N., Janbabaie, G., Abastabar, M., Meis, J., Babaeian, M., Khodavaissy, S., Boekhout, T., y Badali, H. (2018). Identification of uncommon oral yeasts from cancer patients by MALDI-TOF mass spectrometry. *BMC Infectious Diseases*, 18(1), 1–11.
<https://doi.org/10.1186/s12879-017-2916-5>
- Azem, R., y Ransom, E. (2022). Blood Culture Optimization: Practical Tips. *Clinical Microbiology Newsletter*, 44(17), 151–160.
<https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2022.08.005>
- Benz, J., y Schipper, K. (2020). Genetics and Biotechnology. In *The Mycota* (3rd ed.). Springer Cham.
https://doi.org/10.1007/978-3-030-49924-2_15
- Bharathi, R. (2018). Comparison of chromogenic media with the corn meal agar for speciation of *Candida*. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 12(3), 1617–1622.
<https://doi.org/10.22207/JPAM.12.3.68>
- BioMérieux®. (2006). *API Candida - Système d'identification des levures*.
http://www.biologiemarine.com/___fiches/APIpdf/API_Candida-_08159_-_H_-_10500.pdf

- Boekhout, T., Aime, M. C., Begerow, D., Gabaldón, T., Heitman, J., Kemler, M., Khayhan, K., Lachance, M. A., Louis, E. J., Sun, S., Vu, D., y Yurkov, A. (2021). The evolving species concepts used for yeasts: from phenotypes and genomes to speciation networks. *Fungal Diversity*, 109(1), 27–55.
<https://doi.org/10.1007/s13225-021-00475-9>
- Bongomin, F., Gago, S., Oladele, R. O., y Denning, D. W. (2017). Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. *Journal of Fungi*, 3(4), 1–29.
<https://doi.org/10.3390/jof3040057>
- Bonnet, M., Lagier, J., Raoult, D., y Khelaifia, S. (2020). Bacterial culture through selective and non-selective conditions: the evolution of culture media in clinical microbiology. *New Microbes and New Infections*, 34(100622), 1–11.
<https://doi.org/10.1016/j.nmni.2019.100622>
- Borman, A., Fraser, M., y Johnson, E. (2021). ChromagartmCandida plus: A novel chromogenic agar that permits the rapid identification of Candida auris. *Medical Mycology*, 59(3), 253–258.
<https://doi.org/10.1093/mmy/myaa049>
- Camp, I., Spettel, K., y Willinger, B. (2020). Molecular methods for the diagnosis of invasive candidiasis. *Journal of Fungi*, 6(3), 1–14. <https://doi.org/10.3390/jof6030101>
- Castrejón, N., Castillo, J., Baltierra, S., Hernández, J., y García, B. (2022). Candida glabrata is a successful pathogen: An artist manipulating the immune response. *Microbiological Research*, 260(127038), 1–14.
<https://doi.org/10.1016/j.micres.2022.127038>
- Cataldo, R., Arancibia, M., Stojanova, J., y Papuzinski, C. (2019). General concepts in biostatistics and clinical epidemiology: Observational studies with cross-sectional and ecological designs. *Medwave*, 19(8), 7698.

<https://doi.org/10.5867/medwave.2019.08.7698>

Chabasse, D., y Bouchara, J. (2022). Taxonomie des dermatophytes : de Raymond Sabouraud à nos jours. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2022(539), 22–30.

[https://doi.org/10.1016/s1773-035x\(22\)00061-2](https://doi.org/10.1016/s1773-035x(22)00061-2)

Chen, H., Zhou, X., Ren, B., y Cheng, L. (2020). The regulation of hyphae growth in *Candida albicans*. *Virulence*, 11(1), 337–348. <https://doi.org/10.1080/21505594.2020.1748930>

Córdoba, S., y Della Vedova, R. (2021). Micosis oportunistas por levaduras. In *Micología en Medicina Veterinaria. Guía para el diagnóstico de las micosis* (pp. 63–83). Universidad Nacional de La Plata.

https://www.researchgate.net/publication/354450445_Micologia_en_Medicina_Veterinaria_-_Guia_de_laboratorio_para_el_diagnostico_de_las_micosis

Dakhil, N. A., y Samaka, H. M. (2021). Comparative Evaluation Of Vitek 2 System And Pcr Technique In Identification Of *Candida* Species. *Natural Volatiles y Essential Oils*, 8(6), 1621–1629.

<https://www.nveo.org/index.php/journal/article/view/3819/3125>

De Aguiar, R., Alencar, J., de Souza, D., Nogueira, R., Brito, Y., dos Santos, G., Mendes, P., Santos, V., Pereira, L. P., De Queiroz, A., Costa, J., y Gadelha, M. (2017). *Candida parapsilosis* complex in veterinary practice: A historical overview, biology, virulence attributes and antifungal susceptibility traits. *Veterinary Microbiology*, 212, 22–30.

<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2017.07.031>

Deorukhkar, S., y Roushani, S. (2018). Identification of *Candida* Species: Conventional Methods in the Era of Molecular Diagnosis. *Annals of Microbiology and Immunology*, 1(1), 1002.

<https://www.remedypublications.com/open-access/identification-of-Candida-species-conventional-methods-in-the-era-of-molecular-diagnosis-775.pdf>

- Devhare, D. (2021). Species distribution and antifungal susceptibility pattern *Candida* species isolated from patients with vulvovaginal candidiasis by Vitek 2 compact system , in Western. *Journal of Dental and Medical Sciences*, 20(9), 47–52.
<https://doi.org/10.9790/0853-2009044752>
- Domán, M., Makrai, L., y Bányai, K. (2022). Molecular Phylogenetic Analysis of *Candida krusei*. *Mycopathologia*, 187, 333–343. <https://doi.org/10.1007/s11046-022-00640-x>
- Douglass, A., Offei, B., Braun, S., Coughlan, A., Martos, A., Ortiz, R., Byrne, K., y Wolfe, K. (2018). Population genomics shows no distinction between pathogenic *Candida krusei* and environmental *Pichia kudriavzevii*: One species, four names. *PLoS Pathogens*, 14(7), 1–27.
- Eghtedar, E., Ghasemi, P., Mohammadi, M., y Salari, S. (2020). Molecular identification of *Candida* isolates by Real-time PCR-high-resolution melting analysis and investigation of the genetic diversity of *Candida* species. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 34(10), 1–8.
<https://doi.org/10.1002/jcla.23444>
- Elbehiry, A., Aldubaib, M., Abalkhail, A., Marzouk, E., ALbeloushi, A., Moussa, I., Ibrahim, M., Albazie, H., Alqarni, A., Anagreyah, S., Alghamdi, S., y Rawway, M. (2022). How MALDI-TOF Mass Spectrometry Technology Contributes to Microbial Infection Control in Healthcare Settings. *Vaccines*, 10(11), 1881.
<https://doi.org/10.3390/vaccines10111881>
- Enciso, Y. (2018). *Características macroscópicas y microscópicas de Candida albicans en mucosa, superficie de prótesis total en el hogar del Adulto Mayor “San Juan de Dios”* [Universidad Alas Peruanas].
<https://repositorio.uap.edu.pe/handle/20.500.12990/6842>
- Fatima, Z., Kumari, P., Rehman, S., y Hameed, S. (2021). Virulence Traits of *Candida* spp.:

- An Overview. In *Recent Trends in Mycological Research* (Vol. 1, pp. 439–455). Springer.
<https://doi.org/10.2307/829255>
- Freimoser, F., Rueda, M., Tilocca, B., y Migheli, Q. (2019). Biocontrol yeasts: mechanisms and applications. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 35(10), 1–19.
<https://doi.org/10.1007/s11274-019-2728-4>
- Gabaldón, T., y Fairhead, C. (2019). Genomes shed light on the secret life of *Candida glabrata*: not so asexual, not so commensal. *Current Genetics*, 65(1), 93–98.
<https://doi.org/10.1007/s00294-018-0867-z>
- Gabaldón, T., Naranjo, M., y Marcet, M. (2016). Evolutionary genomics of yeast pathogens in the Saccharomycotina. *FEMS Yeast Research*, 16(6), 1–10.
<https://doi.org/10.1093/femsyr/fow064>
- Gamarra, S., Mancilla, E., Dudiuk, C., y Garcia, G. (2015). *Candida dubliniensis* and *Candida albicans* differentiation by colony morphotype in Sabouraud-triphenyltetrazolium agar. *Revista Iberoamericana de Micología*, 32(2), 126–128.
<https://doi.org/10.1016/j.riam.2014.02.002>
- Gautam, A., y Bhadauria, R. (2019). *Mycological Techniques: Identification of Mycotoxigenic Fungi and Mycotoxins*. Scientific Publishers.
<https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=yid=rjP3DwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PP1&ydq=%22isolation+is%22+mycologyyots=Q8zF-ACKIV&sig=zVvh4LIt1-6HXTDJggo4a5oFgz8#v=onepage&q=%22isolation is%22 mycologyyf=false>
- Ghazi, A., Münch, P., Chen, D., Jensen, J., y Huttenhower, C. (2022). Strain Identification and Quantitative Analysis in Microbial Communities. *Journal of Molecular Biology*, 434(167582), 1–14.
<https://doi.org/10.1016/j.jmb.2022.167582>
- González, E., Contreras, C., Caceres, D., Ríos, C., Piñón, J., Téllez, M., Marín, E., Wong, C.,

- Moreno, E., Ramírez, J., Ramírez, J., Montes, N., Lockhart, S., Martínez, N., Martínez, R., García, P., Salazar, M., Hernández, L., y López, I. (2022). The use of readily available laboratory tests for the identification of the emerging yeast *Candida auris* in Mexico. *Archives of Microbiology*, 204(592), 1–6.
<https://doi.org/10.1007/s00203-022-03159-3>
- Gupta, G., Bhattacharyya, S., Sarfraz, A., Sengupta, A., Singh, S., Kumar, D., Anjum, N., y Kumar, A. (2017). Use of pea agar with Tween 80 for Dalmau technique for identification of *Candida albicans*. *Eastern J Medical Sciences*, 2(1), 18–19.
<https://core.ac.uk/download/pdf/267953306.pdf>
- Gupta, V., Abhisheik, K., Balasundari, S., Devendra, N., y Shadab, K. (2019). Identification of *Candida albicans* using different culture media and its association in leukoplakia and oral squamous cell carcinoma. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 23(1), 28–35.
<https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP>
- Haffler, Z., Kulengowski, B., Ribes, J., y Burgess, D. (2019). Evaluation of the BD Phoenix automated system for determining antimicrobial susceptibility against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae compared with broth microdilution. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 54(2), 249–254.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.05.002>
- He, S., Hang, J. P., Zhang, L., Wang, F., Zhang, D. C., y Gong, F. H. (2015). A systematic review and meta-analysis of diagnostic accuracy of serum 1,3- β -d-glucan for invasive fungal infection: Focus on cutoff levels. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*, 48(4), 351–361.
<https://doi.org/10.1016/j.jmii.2014.06.009>
- Heestermans, R., Herroelen, P., Emmerechts, K., Vandoorslaer, K., De Geyter, D., Demuyser,

- T., Wybo, I., Piérard, D., y Muyldermans, A. (2022). Validation of the Colibrí Instrument for Automated Preparation of MALDI-TOF MS Targets for Yeast Identification. *Journal of Clinical Microbiology*, 60(7), 1–7.
<https://doi.org/10.1128/jcm.00237-22>
- Hernández, J., De la Vega, E., Villa, L., y Hernández, C. (2022). Yeast Taxonomy. In *Yeasts: From Nature to Bioprocesses* (pp. 58–72). Bentham Science Publishers.
https://www.researchgate.net/publication/359442129_Chapter_3_Yeast_Taxonomy
- Hernández, N. (2021). Las levaduras y su ecología: ¿existen las levaduras marinas? *Recursos Naturales y Sociedad*, 7(1), 59–85.
<https://doi.org/10.18846/renaysoc.2021.07.07.01.0004>
- Höring, S., Massarani, A. S., Löffler, B., y Rödel, J. (2019). Rapid antibiotic susceptibility testing in blood culture diagnostics performed by direct inoculation using the VITEK®-2 and BD Phoenix™ platforms. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 38(3), 471–478.
<https://doi.org/10.1007/s10096-018-03445-3>
- Hou, T. Y., Chiang-Ni, C., y Teng, S. H. (2019). Current status of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical microbiology. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27(2), 404–414. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.01.001>
- Ingle, S., Kazi, R., Patil, R., y Zore, G. (2019). Proteome analysis of *Candida albicans* cells undergoing chlamydosporulation. *Journal of Proteins and Proteomics*, 10(4), 269–290.
<https://doi.org/10.1007/s42485-019-00024-8>
- Jafarian, H., Kamal, A., Amin, A., y Zarei, A. (2022). Microbial Pathogenesis Population structure , susceptibility profile , phenotypic and mating properties of *Candida tropicalis* isolated from pediatric patients. *Microbial Pathogenesis*, 170(105690), 1–8.
<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2022.105690>

- Jamiu, A., Albertyn, J., Sebolai, O., y Pohl, C. (2021). Update on *Candida krusei*, a potential multidrug-resistant pathogen. *Medical Mycology*, 59(1), 14–30.
<https://academic.oup.com/mmy/article-abstract/59/1/14/5836561>
- Jonas, D., Reuter, S., Klassen, S., Weber, S., Buck, M., Giani, T., Rossolini, G., y Grundmann, H. (2021). Evaluation of the BD Phoenix CPO detect panel for prediction of Ambler class carbapenemases. *Scientific Reports*, 11(13150), 1–9.
<https://doi.org/10.1038/s41598-021-92336-3>
- Joshi, K. R., Solanki, A., y Prakash, P. (1993). Morphological identification of *Candida* species on glucose agar, rice extract agar and corn meal agar with and without Tween-80. *Indian J Pathol Microbiol*, 36(1), 48–52.
- Kainz, K., Bauer, M., Madeo, F., y Carmona, D. (2020). Fungal infections in humans: The silent crisis. *Microbial Cell*, 7(6), 143–145.
<https://doi.org/10.15698/mic2020.06.718>
- Kaur, R., Dhakad, M., Goyal, R., Haque, A., y Mukhopadhyay, G. (2016). Identification and Antifungal susceptibility testing of *Candida* species: A Comparison of Vitek-2 system with conventional and molecular methods. *Journal of Global Infectious Diseases*, 8(4), 139–146.
<https://doi.org/10.4103/0974-777X.192969>
- Keçeli, S., Dündar, D., y Tamer, G. (2016). Comparison of Vitek Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry Versus Conventional Methods in *Candida* Identification. *Mycopathologia*, 181(1–2), 67–73.
<https://doi.org/10.1007/s11046-015-9944-8>
- Kim, T. H., Kweon, O. J., Kim, H. R., y Lee, M. K. (2016). Identification of uncommon *Candida* species using commercial identification systems. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 26(12), 2206–2213.

<https://doi.org/10.4014/jmb.1609.09012>

- Korem, M., Cohen, M., Michael, A., Castiel, D., Assous, M., y Amit, S. (2021). Misidentification of *Candida dubliniensis* isolates with the VITEK MS. *Journal of Medical Mycology*, 31(1), 101107.
<https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2020.101107>
- Krishnasamy, L., Rubini, D., Senthilganes, J., Saikumar, C., Kumaramanickavel, G., Aruni, A., y Nithyanand, P. (2020). Phylogenetic characterization of biofilm forming multidrug resistant *Candida albicans* and Non *albicans Candida* causing vulvovaginal candidiasis. *Gene Reports*, 19(100644), 1–7.
<https://doi.org/10.1016/j.genrep.2020.100644>
- Kumar, K., Askari, F., Sahu, M., y Kaur, R. (2019). *Candida glabrata*: A lot more than meets the eye. *Microorganisms*, 7(2), 1–22. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7020039>
- Kurtzman, C., Fell, J., Boekhout, T., y Robert, V. (2011). Methods for isolation, phenotypic characterization and maintenance of yeasts. In *The Yeasts* (Vol. 1). Elsevier B.V.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-444-52149-1.00007-0>
- Lachance, M., y Walker, G. (2018). *Yeasts*. John Wiley y Sons, Ltd.
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/9780470015902.a0000380.pub3>
- Lacroix, C., Gicquel, A., Sendid, B., Meyer, J., Accoceberry, I., François, N., Morio, F., Desoubeaux, G., Chandenier, J., Kauffmann-Lacroix, C., Hennequin, C., Guitard, J., Nassif, X., y Bougnoux, M. E. (2014). Evaluation of two matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) systems for the identification of *Candida* species. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(2), 153–158.
<https://doi.org/10.1111/1469-0691.12210>
- Lal, S., Parkash, O., Kumar, P., Malik, Z., Unar, K., Ahmed, Z., Maitlo, M., Unar, A., y Sapna, S. (2021). Determination of Predisposing Factors in Developing *Candida albicans*

- Associated Urinary Tract Infection and Antifungal Sensitivity Profile. *Journal of Pharmaceutical Research International*, 33(6), 40–49.
<https://doi.org/10.9734/jpri/2021/v33i631188>
- Linde, J., Duggan, S., Weber, M., Horn, F., Sieber, P., Hellwig, D., Riege, K., Marz, M., Martin, R., Guthke, R., y Kurzai, O. (2015). Defining the transcriptomic landscape of *Candida glabrata* by RNA-Seq. *Nucleic Acids Research*, 43(3), 1392–1406.
<https://doi.org/10.1093/nar/gku1357>
- Lopes, J., y Lionakis, M. (2022). Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. *Virulence*, 13(1), 89–121.
<https://doi.org/10.1080/21505594.2021.2019950>
- Lord, A. K., y Vyas, J. M. (2019). Host Defenses to Fungal Pathogens. In *Clinical Immunology: Principles and Practice* (Fifth Edit, pp. 413–424). Elsevier Ltd.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6896-6.00029-6>
- Mahon, C., y Lehman, D. (2022). *Diagnostic Microbiology* (7th ed.). Elsevier Health Sciences.
https://books.google.es/books?hl=es&lr=yid=L5iZEAAAQBAJ&oi=fnd&ypg=PP1&ydq=culture+media+microbiology&yots=_9H0vrjZ3uysig=MRfsLvH1TxMzXQ2NPmAgVBS8hXs#v=onepage&q=culture+media+microbiology&f=false
- Mantilla, Y., Tuta, E., Brito, A., y Clavijo, L. (2021). Candidiasis y *Candida albicans*. *Boletín de Malariología y Salud Ambiental*, 61(3), 391–400.
<http://iaes.edu.ve/iaespro/ojs/index.php/bmsa/article/view/334/719#>
- Martínez, S. (2014). *Filamentación y actividad proteolítica como pruebas rápidas para la identificación del género Candida spp. de infecciones nosocomiales*. Universidad Autónoma del Estado de México.
- Marucco, A., Minervini, P., Snitman, G., Sorge, A., Guelfand, L., y López, L. (2018). Comparison of the identification results of *Candida* species obtained by BD Phoenix™

- and Maldi-TOF (Bruker Microflex LT Biotyper 3.1). *Revista Argentina de Microbiología*, 50(4), 337–340.
<https://doi.org/10.1016/j.ram.2017.10.003>
- Mesini, A., Mikulska, M., Giacobbe, D., Del Puente, F., Gandolfo, N., Codda, G., Orsi, A., Tassinari, F., Beltramini, S., Marchese, A., Icardi, G., Del Bono, V., y Viscoli, C. (2020). Changing epidemiology of Candidaemia: Increase in fluconazole-resistant *Candida parapsilosis*. *Mycoses*, 63(4), 361–368. <https://doi.org/10.1111/myc.13050>
- Millipore, M., y Sigma, A. (2018). 42347 Corn Meal Agar. <https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/126/115/42347dat.pdf>
- Mulet, J., Salvador, C., Tormo, N., y Gimeno, C. (2020). Evaluation of a novel chromogenic medium for *Candida* spp. identification and comparison with CHROMagar™ *Candida* for the detection of *Candida auris* in surveillance samples. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 98(4), 115168.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2020.115168>
- Opulente, D., Langdon, Q., Buh, K., Haase, M., Sylvester, K., Moriarty, R., Jarzyna, M., Considine, S., Schneider, R., y Hittinger, C. (2019). Pathogenic budding yeasts isolated outside of clinical settings. *FEMS Yeast Research*, 19(3), 1–6.
<https://doi.org/10.1093/femsyr/foz032>
- Oviaño, M., y Rodríguez, B. (2021). MALDI-TOF mass spectrometry in the 21st century clinical microbiology laboratory. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 39(4), 192–200.
<https://doi.org/10.1016/j.eimce.2020.02.016>
- Pal, M. (2020). Candidiasis: An important opportunistic mycosis of global public health concern. *Research in Infectious Diseases and Tropical Medicine*, 2(1), 49–51.

https://dlwqtxts1xzle7.cloudfront.net/67499811/488.C.albican-libre.pdf?1622705939=yresponse-content-disposition=inline%3B+filename%3DCandidiasis_An_important_opportunistic_m.pdf&Expires=1672950326&Signature=Wl-28atBXV6zrXIO5BeFG3QaOLCTmfXz4rawh2~HjoehRklp

Perry, J., y Freydière, A. (2007). The application of chromogenic media in clinical microbiology. *Journal of Applied Microbiology*, 103(6), 2046–2055.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03442.x>

Polke, M., Hube, B., y Jacobsen, I. (2015). Candida survival strategies. *Advances in Applied Microbiology*, 91, 139–235.
<https://doi.org/10.1016/bs.aambs.2014.12.002>

Pote, S., Sonawane, M., Rahi, P., Shah, S., Shouche, Y., Patole, M., Thakar, M., y Sharma, R. (2020). Distribution of pathogenic yeasts in different clinical samples: Their identification, antifungal susceptibility pattern, and cell invasion assays. *Infection and Drug Resistance*, 13, 1133–1145.
<https://doi.org/10.2147/IDR.S238002>

Rachmawati, W. (2020). *Sensitivitas media agar jagung racikan dan media agar beras racikan sebagai media alternatif untuk identifikasi Candida albicans* [Poltekkes Kemenkes Surabaya, Indonesia].
http://repo.poltekkesdepkes-sby.ac.id/3340/1/WINDA_RACHMAWATI_JUNAEDI_P27834119127-1-15.pdf

Rachmawati, W., Suliati, Titik, D., y Hanni, L. (2022). Media Alternatif Agar Jagung untuk Identifikasi Candida albicans. *2-TRIK: Tunas-Tunas Riset Kesehatan*, 12(1), 188–191.
<http://dx.doi.org/10.33846/2trik12215>

Raja, H., Miller, A., Pearce, C., y Oberlies, N. (2017). Fungal Identification Using Molecular

- Tools: A Primer for the Natural Products Research Community. *Journal of Natural Products*, 80(3), 756–770.
<https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b01085>
- Rao, S. (2006). Bacterial culture media. In *Jjmmc*.
https://www.microrao.com/micronotes/culture_media.pdf
- Rodrigues, C., Silva, S., y Henriques, M. (2014). *Candida glabrata*: A review of its features and resistance. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 33(5), 673–688.
<https://doi.org/10.1007/s10096-013-2009-3>
- Sarhan, M., Hamza, M., Youssef, H., Patz, S., Becker, M., ElSawey, H., Nemr, R., Daanaa, H., Mourad, E., Morsi, A., Abdelfadeel, M., Abbas, M., Fayez, M., Ruppel, S., y Hegazi, N. (2019). Culturomics of the plant prokaryotic microbiome and the dawn of plant-based culture media – A review. *Journal of Advanced Research*, 19, 15–27.
<https://doi.org/10.1016/j.jare.2019.04.002>
- Scharmann, U., Kirchhoff, L., Chapot, V. le S., Dziobaka, J., Verhasselt, H. L., Stauff, R., Buer, J., Steinmann, J., y Rath, P. M. (2020). Comparison of four commercially available chromogenic media to identify *Candida albicans* and other medically relevant *Candida* species. *Mycoses*, 63(8), 823–831.
<https://doi.org/10.1111/myc.13119>
- Schoeb, T., y Eaton, K. (2015). Gnotobiotics. In American College of Laboratory Animal Medicine (Ed.), *Laboratory Animal Medicine* (3rd ed., pp. 1263–1296). Elsevier Inc.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-409527-4.00026-2>
- Schwebke, J., Taylor, S., Ackerman, R., Schlager, R., Quigley, N., Gaydos, C., Chavoustie, S., Nyirjesy, P., Remillard, C., Estes, P., McKinney, B., Getman, D., y Clark, C. (2020). Clinical validation of the aptima bacterial vaginosis and aptima *Candida/Trichomonas*

- vaginitis assays: Results from a prospective multicenter clinical study. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(2), e01643-19.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01643-19>
- Seervai, R., Jones, S., Hirakawa, M., Porman, A., y Bennett, R. (2013). Parasexuality and ploidy change in *Candida tropicalis*. *Eukaryotic Cell*, 12(12), 1629–1640.
<https://doi.org/10.1128/EC.00128-13>
- Shi, X., Qiu, H., Wang, J., Zhang, Z., Wang, Y., y Sun, G. (2019). A handy method to remove bacterial contamination from fungal cultures. *PLoS ONE*, 15(1), e0228293.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0224635>
- Sigma, A. (2013). 83551 Rice Extract Agar (REA).
<https://www.sigmaaldrich.com/deepweb/assets/sigmaaldrich/product/documents/164/349/83551dat.pdf>
- Silva, F. (2022). *Determinación del efecto de la interacción entre Candida albicans 10231 y Helicobacter pylori Cepas J99, G27 y SS1, en la morfología de la levadura y en la viabilidad intracelular de Helicobacter pylori* [Universidad de Concepción Chile].
[http://repositorio.udec.cl/bitstream/11594/10022/1/Fabiola Silva tesis.Image.Marked.pdf](http://repositorio.udec.cl/bitstream/11594/10022/1/Fabiola%20Silva%20tesis.Image.Marked.pdf)
- Sudhan, S., Sharma, P., Sharma, M., y Shrivastava, D. (2016). Identification of *Candida* Species in the Clinical Laboratory: A Review of Conventional, Commercial and Molecular Techniques. *International Journal of Medical Research Professionals*, 2(6), 1–8.
<https://doi.org/10.21276/ijmrp.2016.2.6.001>
- Tofalo, R., y Suzzi, G. (2015). Yeasts. In *Encyclopedia of Food and Health* (pp. 593–599).
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00762-5>
- Tóth, R., Nosek, J., Mora, H., Gabaldon, T., Bliss, J., Nosanchuk, J., Turner, S., Butler, G., Vágölgýi, C., y Gácsér, A. (2019). *Candida* parapsilosis: From genes to the bedside.

Clinical Microbiology Reviews, 32(2). <https://doi.org/10.1128/CMR.00111-18>

Tsuchida, S., Umemura, H., y Nakayama, T. (2020). Current status of matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) in clinical diagnostic microbiology. *Molecules*, 25(20), 4775. <https://doi.org/10.3390/molecules25204775>

Vrioni, G., Tsiamis, C., Oikonomidis, G., Theodoridou, K., Kapsimali, V., y Tsakris, A. (2018). MALDI-TOF mass spectrometry technology for detecting biomarkers of antimicrobial resistance: current achievements and future perspectives. *Annals of Translational Medicine*, 6(12), 240–254. <https://doi.org/10.21037/atm.2018.06.28>

Walker, L., y Huppert, M. (1960). Corn Meal-Tween Agar: an Improved Medium for the Identification of *Candida albicans*. *American Journal of Clinical Pathology*, 33(2), 190–194.

Wanger, A., Chavez, V., Huang, R., Wahed, A., Actor, J., y Dasgupta, A. (2017). Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology. In *A Comprehensive Review for Board Preparation, Certification and Clinical Practice* (pp. 173–189). Elsevier Inc.

Wilson, D. (2019). *Candida albicans*. *Trends in Microbiology*, 27(2), 188–189. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2018.10.010>

Wu, J. Y., Zhou, D., Zhang, Y., Mi, F., y Xu, J. (2019). Analyses of the Global Multilocus Genotypes of the Human Pathogenic Yeast *Candida tropicalis*. *Frontiers in Microbiology*, 10(900), 1–14. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00900>

Xu, J. (2021). Is Natural Population of *Candida tropicalis* Sexual, Parasexual, and/or Asexual? *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 11(751676), 1–11. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2021.751676>

- Zabel, R. A., y Morrell, J. J. (2020). The characteristics and classification of fungi and bacteria. In *Wood Microbiology* (pp. 55–98). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819465-2.00003-6>
- Zhang, J., Hung, G.-C., Nagamine, K., Li, B., Tsai, S., y Lo, S.-C. (2016). Development of Candida -Specific Real-Time PCR Assays for the Detection and Identification of Eight Medically Important Candida Species. *Microbiology Insights*, 9, 21–28. <https://doi.org/10.4137/mbi.s38517>
- Zuluaga, A., Arango, K., Caceres, D., Sánchez, Z., Velásquez, V., Gómez, B. L., Parra, C., Maldonado, N., Cano, L., de Bedout, C., y Rivera, R. (2018). Concordance analysis between different methodologies used for identification of oral isolates of Candida species. *Colombia Medica*, 49(3), 193–200. <https://doi.org/10.25100/cm.v49i3.3774>
- Zuza, D., Silva, W., y Chaves, G. (2017). An update on Candida tropicalis based on basic and clinical approaches. *Frontiers in Microbiology*, 8(1927), 1–25. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01927>

IX. Anexos

Anexo A: Ficha de evaluación con Agar Harina de Maíz + Tween 80

[illegible]

Anexo B: Ficha de evaluación con Agar Arroz

[illegible]

Anexo C: Evidencias fotográficas**Imagen 1.**

Preparación del agar papa dextrosa.



(a) Pesado de 200gr de papa en una balanza; (b) infusión de papa; (c) esterilizado de la infusión en la autoclave; (d) placas con medio agar papa dextrosa.

Imagen 2.*Preparación del agar arroz*

(a) Pesado de 200gr de arroz no fortificado; (b) infusión de arroz; (c) filtrado de la infusión; (d) placas con medio agar arroz.

Imagen 3.

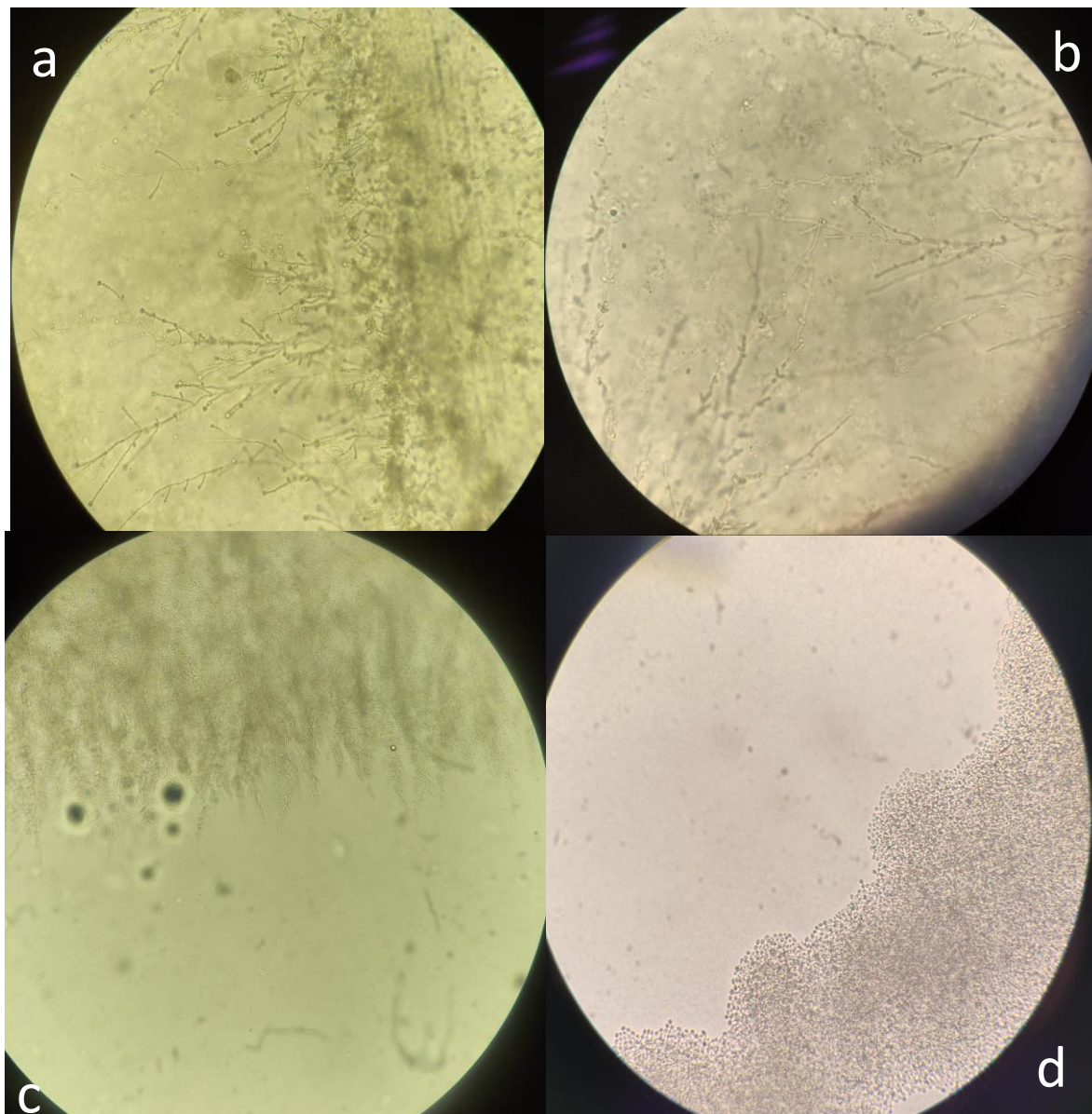
Preparación del agar harina de maíz + tween 80



- (a) Pesado de 40gr de harina de maíz; (b) infusión de harina de maíz; (c) filtrado de la infusión;
(d) placas con medio agar harina de maíz + tween 80.

Imagen 4.

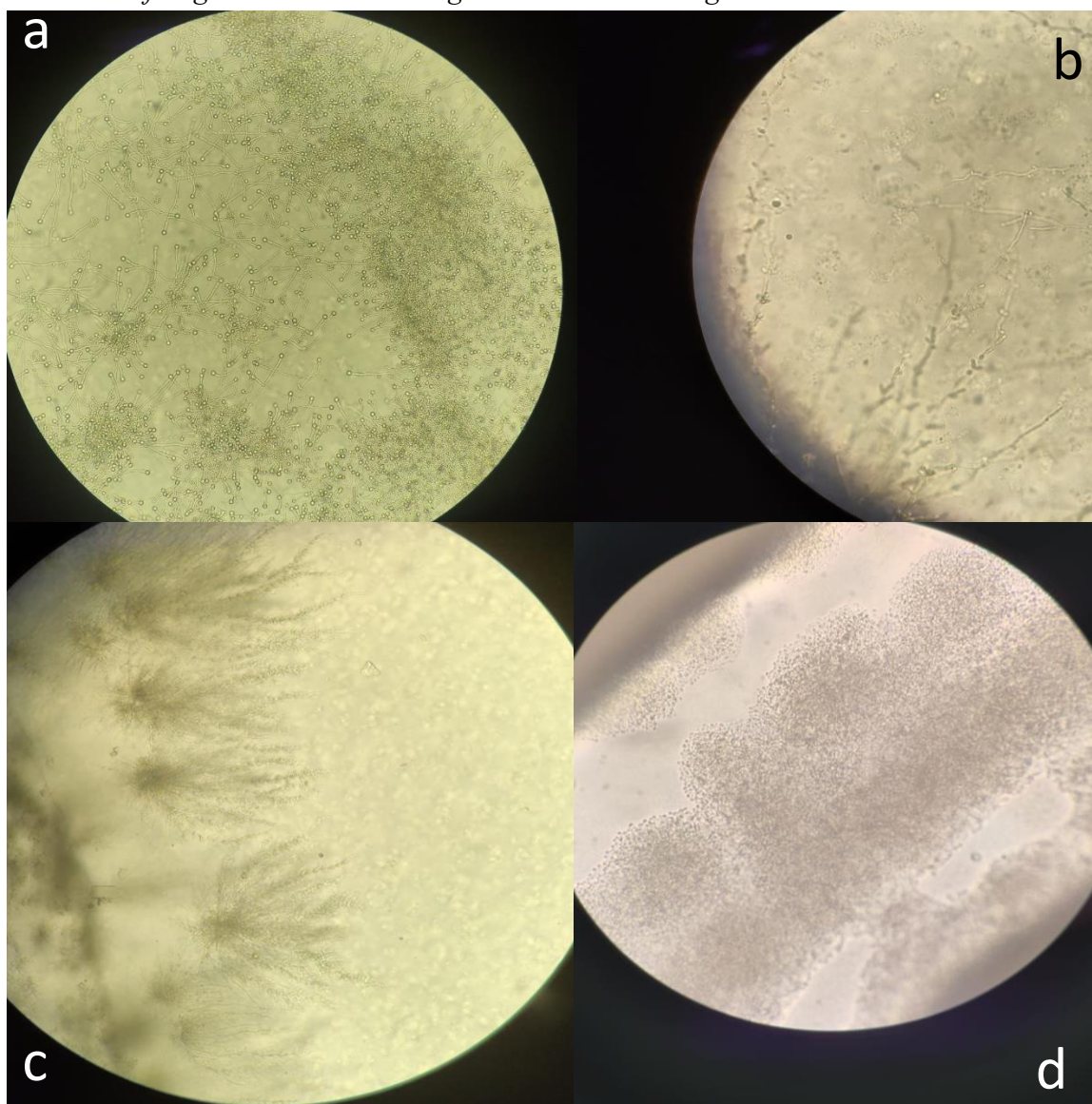
Morfología de levaduras del género Candida en agar harina de maíz + tween 80.



(a) *C.albicans* formación de clamidosporas , hifas, pseudohifas y blastosporas. (b) *C.tropicalis* formación de hifas, pseudohifas y bastosporas. (c) *C. parapsilosis* formación de hifas, pseudohifas y blastosporas, (c) *C. glabrata* formación de blastosporas.

Imagen 5.

Morfología de levaduras del género Candida en agar arroz.



(a) *C. albicans* formación de clamidosporas , hifas, pseudohifas y blastosporas. (b)

C. tropicalis formación de hifas, pseudohifas y bastosporas.

(c) *C. parapsilosis* formación de hifas, pseudohifas y blastosporas,

(d) *C. glabrata* formación de blastosporas.