

## GINECOLOGÍA

**CANDIDA DUBLINIENSIS:  
(Caracterización, diagnóstico,  
Importancia en pacientes  
Inmunocomprometidos y diferenciación  
de *C. albicans*)  
(Revisión Bibliográfica)**

Carlos Quesada Gómez \*  
Laura Murillo Hidalgo \*  
Mauricio Ureña Varela \*\*  
Edras Vargas Monge \*

**S U M M A R Y**

**Candida sp. is a yeast that causes primary and secondary infections. Recently, a species of this genre, *Candida dubliniensis*, has emerged as an important pathogen, specially in HIV positive immuno suppressed individuals, with manifestations mainly in oral cavity. This yeast presents some difficulties in it's identification, particulary when it has to be differentiated from *Candida albicans*. This differentiation is important because of the differences both yeasts present in terms of antifungic resistance. Still, there are some simple biochemic and phenotypic tests that allow to identify correctly *C. dubliniensis*. This review focuses on the clinic manifestations of *C. dubliniensis* infection, as well as**

**the biochemic phenotypic and molecular tests that help with this yeast's identification.**

**I NTRODUCCIÓN**

La candidosis es una micosis primaria o principalmente secundaria, ocasionada por las levaduras del género *Candida* sp. Las manifestaciones clínicas son localizadas, diseminadas o sistémicas; puede afectar piel, mucosas u órganos internos. Las alteraciones histopatológicas varían desde inflamación mínima hasta supuración o reacciones granulomatosas.(1) Aunque *Candida albicans* ha sido el agente más frecuente en

la candidiasis orofaríngea en pacientes inmunosupresos, en estos últimos años su prevalencia ha disminuido; favoreciéndose otras especies de tales como *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei* y en los últimos años una nueva especie denominada *C. dubliniensis*. La taxonomía correspondiente a esta nueva especie, es la siguiente: Clase Blastomycetes, Orden Moniliales, Familia Cryptococcaceae(1), *C. dubliniensis* (Sullivan, Coleman, Westerneng, Haynes y Bennett, 1995).

**ASPECTOS CLÍNICOS  
Y PATOGÉNESIS**

En la gran mayoría de pacientes VIH positivos, en estados tempranos

\* Microbiólogo (a) interno del Hospital San Juan de Dios. Licenciatura en Microbiología y Química Clínica, Universidad de Costa Rica.

\*\* Microbiólogo interno del Hospital México. Licenciatura en Microbiología y Química Clínica, universidad de Costa Rica.

nos de la infección, inicia un aumento substancial de los niveles de levaduras del género *Candida* sp., hasta llegar a cantidades mucho mayores que las que presentan personas sanas. Con el incremento de la densidad de estas levaduras en cavidad oral, se llega a establecer un proceso infeccioso; lo que es indicativo de que los mecanismos inmunológicos están seriamente comprometidos, debido a que un hongo que es comúnmente microbiota indígena de cavidad oral establece una micosis con un cuadro clínico asociado.(15) La mayoría de aislamientos identificados como *C. dubliniensis*, han sido obtenidos de cavidades orales de individuos VIH positivos, particularmente de pacientes que presentan episodios recurrentes de candidosis. Además, se ha encontrado causando infecciones sistémicas; logrando aislarse *C. dubliniensis* de: heces, esputo, orina, vagina y tracto respiratorio(17); y también, asociándose esta patología a población pediátrica (9). En general, estas levaduras son consideradas flora normal de cavidad oral de los humanos. Por lo que se va a establecer una competencia entre *C. albicans* y *C. dubliniensis* (15); ante algunas investigaciones realizadas se ha planteado lo siguiente:

- En ausencia de presión por antifúngicos, en la cavidad oral va a predominar *C. albicans*.
- Algunos factores que pueden favorecer el predominio, en orofaringe, de *C. dubliniensis* son: su hidrofobicidad de células de superficie que le permite

unirse a bacterias de cavidad oral y formar biopelículas.(10)

Además, a *C. dubliniensis* ya se le ha demostrado la capacidad de generar más rápidamente resistencia a la terapia antifúngica; principalmente en pacientes con factores predisponentes como SIDA o VIH positivo, que han recibido múltiples tratamientos contra diversas micosis que se le han establecido(6), de ahí la importancia del aislamiento e identificación de esta nueva especie. Este uso prolongado de antifúngicos pueden eliminar la competencia de *C. dubliniensis* con otros hongos (principalmente *C. albicans*) y aumentar el riesgo de una candidosis orofaríngea por esta nueva especie con elevados perfiles de resistencia.(10)

#### ASPECTOS EPIDEMIOLÓGICOS

No existen muchos casos reportados por *C. dubliniensis*, probablemente sí existan casos pero por la falta de experiencia, por la falta de procedimientos estandarizados para su identificación y por su gran semejanza con *C. albicans*, debe existir un subregistro y la identificación como *C. albicans* (8). Además está en aumento la cantidad de casos de infecciones reportadas por *Candida* no-*albicans* como: *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. krusei*, por lo que no es de extrañar que conforme pasen los años y se tengan mejores técnicas de identificación aumentarán los casos por *C. dubliniensis*. (15) Han sido reportados casos principalmente en Irlanda, Estados

Unidos, Argentina, Suiza, Australia e Inglaterra; en donde se han logrado aislar e identificar la levadura con seguridad y asociarla al proceso infeccioso.(10) En algunos estudios de investigación realizados se ha asociado la candidosis por *C. dubliniensis* con los siguientes factores (algunos mencionados anteriormente):

- Pacientes VIH-positivos o en fase SIDA y/o historia de uso de drogas intravenosas.
- Se ha asociado fuertemente con pacientes VIH positivos o con alguna enfermedad debilitante de fondo que fueron tratados previamente (un período no mayor de los 9 meses) con fluconazol debido a una candidosis orofaríngea.(10)
- Se ha visto implicado a micosis mixtas en pacientes inmunocomprometidos; en donde se ha logrado aislar e identificar *C. dubliniensis* junto con *C. albicans*.
- Pacientes VIH negativos, pero con enfermedades debilitantes de fondo como una diabetes descompensada o uso de drogas inmunosupresoras, y que ha recibido tratamientos prolongados con antifúngicos.

#### PRUEBAS BIOQUÍMICAS Y FENOTÍPICAS PARA LA DIFERENCIACIÓN DE *C. albicans* Y *C. dubliniensis*

Estas dos especies tienen características fenotípicas casi idénticas, lo que hace difícil la diferenciación al intentar identificarlas a nivel de los laboratorios clínicos de los centros hospitalarios. Algunas de las características que comparten son las siguientes:

- Características macróscopicas en Agar Glucosado de Sauboraud (AGS) prácticamente idénticas.(14)
- Características microscópicas idénticas: blastosporas gemantes y producción pseudomicelio.(6)
- Prueba de tubo germinativo positivo (en suero humano, en 3 horas a 37 °C).(6)
- Producción de clamidosporas en Agar Harina de Maíz (Cornmeal) (6)
- Crecimiento a 37 °C en AGS. (14)

Actualmente, la forma más precisa para diferenciar entre ambas especies son las técnicas moleculares, lo cual se lleva a cabo en laboratorios de referencia. Algunos métodos fenotípicos confiables para la identificación de *C. dubliniensis* son la asimilación de carbohidratos, empleando sistemas comerciales, y la detección de antígenos específicos mediante inmunofluorescencia, morfología en algunos medios de cultivo, entre otros.(11) Cuadro 1. Pruebas bioquímicas y fenotípicas para la caracterización y diferenciación de *C. albicans* y

*C. dubliniensis*. Como es evidente en el Cuadro 1, no se podría dar una identificación definitiva ni descartar la presencia de *C. dubliniensis* en un aislamiento con una única prueba de las anteriores. Además, se pueden sumar a estas pruebas la utilización de los Sistema de asimilación de carbohidratos utilizados en algunos centros hospitalarios y laboratorios clínicos; como lo son: API 20C AUX., Vitek System, o API ID 32 C, (bioMérieux, Francia). Sin embargo, múltiples estudios realizados han evidenciado que aún no se puede excluir la presencia de *C. dubliniensis* basados en estos sistemas, debido a que aislamientos de esta especie han dado resultados como lo siguientes en estas pruebas: la no identificación, un perfil dudoso, o bien, una pobre identificación como *C. sake* o *C. albicans*. Esto debido a la cercanía genética, fenotípica y bioquímica de *C. albicans* y *C. dubliniensis*. 6,15

#### ENSAYOS DE INMUNOFLUORESCENCIA

En un estudio realizado en 1998, se preparó un antisuero policlonal en ratones neozelandeses, para luego probarlo en la identificación de varias levaduras.(3) Entonces, se realizaron varias pruebas de inmunofluorescencia indirecta, en donde se le agregó anti-*C. dubliniensis* a aislamientos de varias levaduras y luego se añadió el conjugado anti-anticuerpos de ratón marcado con el fluorocromo.

Conforme iba avanzado el estudio se trató de purificar el antisuero y eliminar anticuerpos que reconocieran antígenos comunes entre blastosporas de *C. dubliniensis* y *C. albicans*.(3) Se logró obtener un antisuero capaz de no tener reacción cruzada con *C. albicans* y que reconociese sólo a *C. dubliniensis*; sin embargo, este siguió presentando en algunas ocasiones reacciones cruzadas con *C. krusei* y *Rhodotorula rubra*.(3) En fin, a la conclusión a la que se llega es que existe una diferencia antigénica importante en *C. dubliniensis* y *C. albicans* que permite realizar técnicas inmunológicas para su identificación, sin embargo, se debe perfeccionar o tratar de obtener anticuerpos más específicos (como monoclonales) que eliminen la posibilidad de reacciones cruzadas con otras especies de *Candida* y con otros hongos.

#### TÉCNICAS MOLECULARES PARA DIFERENCIACIÓN ENTRE *C. albicans* y *C. dubliniensis*

##### Análisis PCR y PCR-multiplex

Se han llegado a utilizar análisis de PCR directo o multiplex PCR con primers específicos que amplifican los genes SAP (proteasa aspártica secretada) y genes DAP2 (dipéptidil aminopéptidasa), y que sirven para diferenciar claramente *C. albicans* de *C. dubliniensis*.(2, 18)

##### “Pulsed field gel electrophore-

**Cuadro 1. Pruebas bioquímicas y fenotípicas para la caracterización y diferenciación de *C. albicans* y *C. dubliniensis***

<b>PRUEBA</b>	<b><i>C. albicans</i></b>	<b><i>C. dubliniensis</i></b>
Crecimiento en AGS a 45 °C en 48 horas(17)	99% de las cepas presentan crecimiento.	En general, ninguna cepa logra crecer.
Crecimiento en AGS a 42 °C en 48 horas(17)	Todas las cepas presentan buen crecimiento.	9% de las cepas logran crecer en estas condiciones.
Producción de clamidosporas en Agar Cornmeal (1,14,15)	En general, produce clamidosporas terminales(1).	Produce clamidosporas agrupadas en pares, tripletas o cadenas largas, pero no todas las cepas lo hacen (14,15).
Producción de clamidosporas en Agar Staib(16)	Ninguna cepa produce clamidosporas en este medio durante 48 horas.	85% de las cepas producen clamidosporas en este agar durante 48 horas.
Utilización del medio CHROMagar, (15,17)	Produce colonias verdes -azuladas claras en 48 horas a 37 °C.	Produce colonias verdes oscuro en 48 horas a 37 °C. Pero sólo en aislamientos primarios, con los subcultivos esta característica se pierde.
Utilización del Agar Azul Metilo de Sabouraud (14)	Colonias fluorescen con un color amarillo al ser expuesto a luz UV, pero solo en aislamiento primarios, no subcultivos.	No presenta fluorescencia bajo las mismas condiciones.
Producción de clamidosporas en Agar Caseína (11)	No produce clamidosporas a 24 °C en 48 horas.	Producción de abundantes clamidosporas a 24 °C en 48 horas.

### sis” y análisis de cariotipo

En estudios realizados en 1999, se realizaron análisis del cariotipo mediante “pulsed field gel electrophoresis”; se obtuvo que la cepa Cd36 y aislamientos sospechosos de *C. dubliniensis* mostraron 9 a 10 bandas en su mayoría menores de 1 Mb. En cambio, la cepa ATCC 18804 y aislamientos sospechosos por *C. albicans* mostraron 7 o menos bandas cada una y en su mayoría mayores a 1 Mb.(6) Este análisis ha demostrado ser una técnica excelente para diferenciación genética entre poblaciones. Con ella se detectan variaciones en distintos loci debidos a la divergencia evolucionaria. Permitted distinguir a *C. dubliniensis* de *C. albicans* y *C. stellatoidea* en dos estudios distintos, demostrando su gran divergencia genética de otras especies de *Candida* sp.(6)

### TRATAMIENTO Y RESISTENCIA A LOS ANTIFÚNGICOS EN *C. dubliniensis*

El tratamiento contra las levaduras del género *Candida* siempre será muy difícil, debido a que estas micosis casi siempre se asocian con factores predisponentes muy serios (como los mencionados en los aspectos epidemiológicos). Por esto, el tratamiento de elección contra una candidiasis va a ser eliminar, controlar o reducir los factores predisponentes del paciente.(1) Todavía no se ha establecido exactamente el tratamiento

a seguir en una infección por *C. dubliniensis*, sobre todo, por que en los casos que se han reportado van a presentar altos niveles de resistencia al fluconazol y en menor medida a otros azoles.(15) El principal problema, es que en pacientes neutropénicos, VIH positivos o con SIDA es muy común que reciban tratamientos prolongados principalmente con fluconazol, pero también con ketoconazol o itraconazol.(1) Por eso es común que en estos tipos de pacientes se desarrollen candidosis orofaríngea con altos niveles de resistencia a los antifúngicos. Sin embargo, los derivados de azoles (principalmente el fluconazol), continúan siendo efectivos en el tratamiento de candidiasis oral, aún en pacientes con avanzada inmunodeficiencia, constituyéndose el tratamiento estándar. Como se mencionó anteriormente, con la aparición de esta nueva especie, se han realizado estudios en donde se demuestra que *C. dubliniensis* desarrolla resistencia “in vitro” al fluconazol, cuando es expuesto a este por períodos cortos pero todos los aislamientos permanecen sensibles a Anfotericina B y a caspofungina. (13)

### C ONCLUSIONES

*Candida dubliniensis* se asemeja fenotípicamente a *Candida albicans* de tal forma que a menudo es falsamente identificada como tal. Hasta que a esta nueva especie no se le dé la importancia clínica que

tiene, seguirá siendo confundida con *C. albicans*, dificultando todo esfuerzo por conocer su epidemiología y su verdadera importancia clínica. Por otro lado, para un posible diagnóstico, en un medio limitado como el de los países subdesarrollados como Costa Rica; se podría tomar en cuenta los siguientes aspectos para llegar a una identificación certera de *C. dubliniensis*:

- Aspectos epidemiológicos: pacientes con factores predisponentes importantes, con cuadro recurrentes de candidosis oral, y que posiblemente hayan recibido tratamientos prolongados con antifúngicos.
- Ausencia de crecimiento a 45 °C en AGS a las 48 horas.
- Producción de tubo germinativo en 3 horas exactas de incubación a 37 °C.
- Generación de clamidosporas en Agar Cornmeal (en algunas cepas serán en pares o cadenas largas).
- Se pueden utilizar medios baratos y sencillos como el Agar Caseína, y la producción de clamidosporas.
- Perfil de asimilación de azúcares, mediante el uso del sistema de identificación de levaduras API 20C AUX o Vitek System (bioMérieux, Francia).

Por último, es muy importante señalar que estas pruebas se deben

utilizar simultáneamente y se deben asociar a los aspectos epidemiológicos y clínicos. No se puede descartar la presencia de *C. dubliniensis* con un sólo procedimiento de los anteriores.

## R E S U M E N

La levadura *Candida* sp causa infecciones primarias y secundarias. Recientemente una especie de este género, *Candida dubliniensis*, ha emergido como un patógeno importante, especialmente en pacientes inmunosupresos con HTV, con manifestaciones principalmente en cavidad oral. Esta levadura presenta ciertas dificultades en su identificación, en particular a la hora de ser diferenciada de *Candida albicans*. Esta diferenciación es importante debido a diferencias en cuanto a resistencia a tratamiento antifúngico. Aún así, existen algunas pruebas bioquímicas y fenotípicas sencillas que permiten separar estas levaduras. El siguiente artículo se centra en las manifestaciones clínicas de una infección por *C. dubliniensis*, así como en las pruebas bioquímicas, fenotípicas y moleculares que permiten identificar esta especie.

## B I B L I O G R A F Í A

1. Arenas, R. *Micología Médica Ilustrada*. 2 Edición, McGraw-Hill Interamericana. México D.F., México. 2003. Pp 189-204.
2. Bautista-Muñoz, C.; Boldo, X.M.; Villatanaca, L. y Hernández-Rodríguez, C. Identification of *Candida* sp. by Randomly Amplified Polymorphic DNA Analysis and Differentiation between *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* by Direct PCR Methods. *Journal of Clinical Microbiology*, 41: 414-420. 2003.
3. Bikandi, J.; San Millán, R.; Moragues, M.; Cebas, G.; Clarke, M.; Coleman, D.C.; Sullivan, D.J.; Quindós, G. y Pontón, J. Rapid Identification of *Candida dubliniensis* by Indirect Immunofluorescence Based on Differential Localization of Antigens on *C. dubliniensis* Blastospores and *Candida albicans* Germ Tubes. *Journal of Clinical Microbiology*, 36: 2428-2433. 1998.
4. Bliss, J.M.; Sullivan, M.A.; Malone, J. y Haidaris, C.G. Differentiation of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* by Using Recombinant Human Antibody Single-Chain Variable Fragments Specific for Hyphae. *Journal of Clinical Microbiology*, 41: 1152-1160. 2003.
5. Gales, A.C.; Pfaller, M.A.; Houston, A.K.; Joly, A.; Sullivan, D.J.; Coleman, D.C. y Soll, D.R. Identification of *Candida dubliniensis* Based on Temperature and Utilization of Xylose and -Methyl-D-Glucoside as Determined with the API 20C AUX and Vitek YBC Systems. *Journal of Clinical Microbiology*, 37:3804-3808.1999.
6. Jabra-Rizk, M.A.; Baqui, A.A.M.; Kelley, J.I.; Falkler, W.A.; Merz, W.C. y Meiller, T.F. Identification of *Candida dubliniensis* in a Prospective Study of Patients in the United States. *Journal of Clinical Microbiology*, 37: 321-326. 1999.
7. Jabra-Rizk, M.A.; Falkler, W.A.; Merz, W.G.; Kelley, J.I.; Baqui, A.A.M. y Meiller, T.F. Coaggregation of *Candida dubliniensis* with *Fusohacterium nucleatum*. *Journal of Clinical Microbiology*, 37: 1464-1468. 1999.
8. Jabra-Rizk, M.A.; Falkler, W.A.; Merz, W.C.; Baqui, A.A.M.; Kelley, J.I. y Meiller, T.F. Retrospective Identification and Characterization of *Candida dubliniensis* Isolates among *Candida albicans* Clinical Laboratory Isolates from Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Infected and Non-HIV-Infected Individuals. *Journal of Clinical Microbiology*, 38: 2423-2426. 2000.
9. Kim, J.O.; Garofalo, L.; Blecker-Shelly, D. y McGowan, K.L. *Candida dubliniensis* Infections in a Pediatric Population: Retrospective Identification from Clinical Laboratory Isolates of *Candida albicans*. *Journal of Clinical Microbiology*, 41: 3354-3357. 2003.
10. Martínez, M.; López-Ribot, J.L.; Kirkpatrick, W.R.; Cocco, B.J.; Bachmann, S.P. y Patterson, T.F. Replacement of *Candida albicans* with *C. dubliniensis* in Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients with Oropharyngeal Candidiasis Treated with Fluconazole. *Journal of Clinical Microbiology*, 40: 3135-3139.2002.
11. Mosca, C.O.; Moragues, M.D.; Llovo, J.; Al-Mosaid, A.; Coleman, D.C. y Pontón, J. Casein Agar: a Useful Medium for Differentiating *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *Journal of Clinical Microbiology*, 40: 414-420. 2002.
12. Oliveira, K.; Haase, G.; Kurtzman, C.; Hyldig-Nielsen, J.J. y Stender, H. Differentiation of *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* by Fluorescent In Situ Hybridization with Peptide Nucleic Acid Probes. *Journal of Clinical Microbiology*, 39: 4138-4141. 2001.
13. Perea, S.; López-Ribot, J.L.; Wickes, B.L.; Kirkpatrick, W.R.; Dib, O.P.; Bachmann, S.P.; Keller, S.M.; Martínez, M. y Patterson, T.F. Molecular Mechanisms of Fluconazole Resistance in *Candida dubliniensis* Isolates from Human Immunodeficiency Virus-Infected Patients with Oropharyngeal Candidiasis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46: 1695-1703. 2002.
14. Sullivan, D. y Coleman, D.C. *Candida dubliniensis*: Characteristics and Identification. *Journal of Clinical Microbiology*, 36: 329-334. 1998.
15. Sullivan, D.J.; Coleman, D.C.; Bennet, D.E.; Moran, G.P.; Barry, H.J. y Shanley, D.B. Candidiasis: the emergence of novel species, *Candida dubliniensis*. *AIDS* 1997, 11: 557- 567. 1997.
16. Sullivan, D.; Al-Mosaid, A.; Salkin, I.F.; Shanley, D. y Coleman, D.C. Differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans* on Staib Agar and Caffeic Acid-Ferric Citrate Agar. *Journal of Clinical Microbiology*, 39: 323-327. 2001.
17. Sullivan, D.; Pinjon, E.; Salkin, I.; Shanley, D. y Coleman, D.C. Simple, Inexpensive, Reliable Method for Differentiation of *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. *Journal of Clinical Microbiology*, 36: 2093-2095. 1998.
18. Wahyuningsih, R.; Freisleben, H.J.; Sonntag, H.G. y Schnitzler, P. Simple and Rapid Detection of *Candida albicans* DNA in Serum by PCR for Diagnosis of Invasive Candidiasis. *Journal of Clinical Microbiology*, Vol 38. 2000.
19. Salas, I. y Gross, N.T. *Manual de Procedimientos en Micología Médica*. Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica. San José. Costa Rica. 2004.
20. Meis, J.; Ruhnke, M.; De Pauw, B.E.; Odds, F.C.; Sergert, W. y Verweij, R.E. *Candida dubliniensis*: Candidemia in patients with chemotherapy-induced neutropenia and bone marrow transplantation. *Emerging Infectious Diseases*, Vol. 5. 1999.