

Marielsa Gil¹ González Luis² Mendoza Vanessa³ Ochoa Maureen³ Castrillo Smirna⁴ Sánchez Julieta⁵ Briceño Andris³
marielsagilfd@hotmail.com

- 1 Bioanalista Microbiólogo, Docente e Investigador del Departamento de Microbiología de la Universidad de Carabobo, Venezuela. Jefe del Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico de la Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas, Universidad de Carabobo Venezuela.
- 2 Bioanalista Micólogo, Jefe del Laboratorio de Micología de la Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas, Universidad de Carabobo Venezuela. Presidente de la Sociedad Venezolana de Microbiología Capítulo Carabobo, Docente de la Facultad de Odontología de la Universidad de Carabobo, Venezuela.
- 3 Bioanalista, Laboratorio de Diagnóstico Bacteriológico, Escuela de Ciencias Biomédicas y Tecnológicas, Universidad de Carabobo Venezuela.
- 4 Bioanalista, Magíster en Investigación Educativa, Doctora en Ciencias Sociales, Docente del Departamento de Metodología de Investigación y Desarrollo Profesional de la Escuela de Bioanálisis, Universidad de Carabobo, Venezuela.
- 5 Bioanalista Microbiólogo, Laboratorio Clínico la Viña, Estado Carabobo, Venezuela.

Fecha de envío: 22/08/2016

Fecha de correcciones 10/01/2017

Fecha de aceptación 27/07/2017

Fecha de publicación: 31/07/2017

Resumen

El objetivo de la investigación fue evaluar la capacidad de formación de biopelículas en especies del género *Candida* provenientes de muestras clínicas con procesos infecciosos. La muestra estuvo constituida por 70 aislados obtenidos de laboratorios clínicos privados. Para la identificación de las especies se utilizó la Prueba de tubo germinativo y la técnica de microcultivo en agar harina de maíz con tween 80, mientras que la cuantificación de la capacidad de formación de biopelículas se realizó por la técnica de microplaca de poliestireno. Entre los resultados obtenidos en la investigación las especies aisladas fueron: *Candida glabrata* (34%), Complejo *Candida albicans* (30%), Complejo *Candida parapsilosis* (27%) y *Candida tropicalis* (9%), de las cuales 41 aislados (59%) formaron biopelículas, resultando el Complejo *Candida albicans* y *Candida glabrata* las especies con mayor grado de formación de biopelículas con 29% cada una, seguida de Complejo *Candida parapsilosis* con 27% y *Candida tropicalis* con 15%. Las cepas que tuvieron mayor formación de biopelículas provenían de orina, seguidas de secreción ótica, secreción vaginal y sangre, sin embargo al aplicar la prueba de Chi-cuadrado (χ^2) de Pearson se determinó que no existe asociación estadísticamente significativa entre la capacidad de formación de biopelículas y el grado de formación con la procedencia clínica así como tampoco hay asociación entre la capacidad de formación de biopelículas y grado de formación con la especie involucrada ($p > 0,05$).

Palabras clave: Biopelículas, *Candida*, procedencia clínica.

Copyright © Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Tecnológica de Pereira. 1995-2017. Todos los derechos reservados *

Abstract

Capability of biofilm formation in *Candida* genus species of clinical origin.

The aim of this research was to evaluate the capability of biofilm formation in *Candida* genus species from clinical samples with infectious conditions. The sample consisted of 70 isolates obtained from private clinical laboratories. Germ tube test and agar cornmeal with tween 80 microculture technique were used as species identification, meanwhile, quantification of biofilm formation capacity was performed by the polystyrene microplate technique. Among the results obtained in the research, isolated species were: *Candida glabrata* (34%), *Candida albicans* Complex (30%), *Candida parapsilosis* Complex (27%) and *Candida tropicalis* (9%), of which 41 isolates (59%) formed biofilms, resulting *Candida albicans* and *Candida glabrata* Complex species with the highest degree of biofilms with 29% each, followed by *Candida parapsilosis* Complex with 27% and *Candida tropicalis* with 15%. Strains with more biofilm formation came from urine, followed by ear discharge, vaginal secretion and blood. However, by applying the Chi square test the Pearson, it was determined that there was no statistically significant association between the capability of biofilm formation and the formation degree with clinical origin, neither there is association between the ability of biofilm formation and the formation degree with the species involved ($p > 0.05$).

Key words: Biofilms, *Candida*, Clinical Origin.

Copyright © Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Tecnológica de Pereira. 1995-2017. All rights reserved *.

Introducción

El género *Candida* está constituido por un gran número de especies, entre las que se encuentran Complejo *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, Complejo *C. parapsilosis*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, entre otras [1].

Entre los factores de patogenicidad del género *Candida* se destacan: las adhesinas de glucoproteína y manano que favorecen la colonización y permanencia en la superficie corporal; enzimas como la proteasas, fosfolipasas, lisofosfolipasas. Y entre los factores de virulencias están la morfología celular, la actividad enzimática extracelular, el cambio fenotípico y los factores de adhesión que favorecen la formación de biopelículas [2].

Las biopelículas son organizaciones microbianas que se adhieren a las superficies gracias a la secreción de un exopolímero compuesto de glicocalix. Este exopolímero que es producido por los mismos microorganismos, forma una matriz adherente en donde estos quedan atrapados y comienzan a organizarse en colonias con diferentes requerimientos metabólicos. Entre las características de las biopelículas están la adherencia y heterogeneidad, que proporcionan resistencia contra defensas del hospedero, agentes antimicrobianos, detergentes, y capacidad de comunicación intercelular que las convierten en complejos difíciles de erradicar de los ambientes donde se establecen [3-5].

Su aparición como patógeno nosocomial es importante, ya que la infección por *Candida* es un factor de riesgo asociado a pacientes con enfermedades predisponentes, inmunodeficientes, con neoplasias y además se asocia a procedimientos médicos modernos, como tratamientos con fármacos inmunosupresores y antibióticos de amplio espectro, implantes de catéteres intravasculares o urinarios, tubos endotraqueales, válvulas cardíacas, marcapasos, reemplazos de articulaciones (cadera o rodilla), entre otros aparatos o dispositivos biomédicos. En los cuales se ha evidenciado la formación de biopelículas en la superficie de estos implantes, pudiendo alterarlos, disminuir su funcionalidad o inhabilitarlos [2, 4, 6].

Se ha observado que, en poblaciones sésiles del género *Candida* hay modificaciones en su capacidad de respuesta metabólica en comparación con las células planctónicas, ya que las células dentro de las biopelículas modifican su respiración mitocondrial debido al gradiente de oxígeno y nutrientes, lo que genera heterogeneidad fisiológica, que constituye una característica de las biopelículas, por lo tanto la capacidad de formar biopelículas está relacionada directamente con el aumento de la resistencia antifúngica debido a estas modificaciones entre otros factores, favoreciendo la permanencia de la *Candida* en el hospedador y desarrollando cronicidad en los procesos infecciosos [4, 7-13]. Es por ello que, la presente investigación tuvo como objetivo principal evaluar la capacidad de formación de biopelículas en especies del género *Candida* aisladas de distintos procesos infecciosos, con la finalidad de comparar la capacidad de formación de biopelículas entre las distintas especies aisladas del género *Candida* y además relacionar la formación de biopelículas de las especies aisladas del género *Candida* con la procedencia clínica.

Materiales y métodos

Esta investigación es de tipo descriptivo, de corte transversal, prospectivo y con un diseño no experimental [14,15]. La población estuvo conformada por 70 cepas de levaduras del género *Candida* de diversas procedencias clínicas, aisladas en dos Laboratorios Privados de la Ciudad de Valencia, estado Carabobo Venezuela, entre mayo a noviembre de 2015. Los aislados fueron recolectados después de obtener la permisología otorgada por cada Laboratorio, cumpliéndose con el requisito del consentimiento informado de los pacientes involucrados. La muestra estuvo constituida por el total de las cepas que conformó la población.

Identificación de las cepas de levaduras del género *Candida*

Las cepas se sembraron en Agar Sabouraud Marca BD-BBL[™] suplementada con antibiótico para inhibir el crecimiento bacteriano. A las colonias aisladas se les realizó un examen directo, seguido de una tinción de Gram a cada uno de los aislados, para observar sus características morfológicas [16]. Las que poseían las características típicas de una levadura se sembraron en Agar Sabouraud a temperatura ambiente por 48 horas [16]. Luego se procedió a su identificación a través de la prueba de tubos germinativos para diferenciar las especies del Complejo *Candida albicans* de las *Candida no albicans*, posteriormente se realizó la detección de clamidiasporas en Agar- Harina de Maíz con Tween 80, para la identificación de cada especie [16].

Cuantificación de la formación de biopelículas de los aislados de levaduras del género *Candida*

Una vez identificadas se procedió a la cuantificación de la capacidad de formación de biopelículas, la cual se efectuó mediante la técnica de microplaca en pozos de poliestireno (método colorimétrico) siguiendo la metodología de Rojas y cols adaptándola para levaduras, por lo cual se modificó el tiempo y temperatura de incubación por tratarse de un microorganismo fúngico [17].

Se preparó una suspensión de levadura ajustada al patrón de 1% Mc Farland para cada especie de *Candida* aislada en caldo de soya tripticasa (CST) marca BD-BBL[™]. Ajustado el inóculo se procedió a colocar en cada pozo 20 µL de dicha suspensión más 180 µL de CST con glucosa al 0,25% (dilución 1:10) y luego se incubó en cámara húmeda por 48 horas a temperatura ambiente. Pasada la incubación, en cada pozo se realizaron 3 lavados con solución salina fisiológica estéril (SSF), pH 7,2 para eliminar las células no adheridas. Luego se añadieron 200 µL de solución de cristal violeta al 0,01% manteniéndose a temperatura ambiente por 30 min, para posteriormente realizar 3 nuevos lavados con SSF. A continuación se colocaron 200 µL de etanol al 95% para solubilizar el colorante adherido a las paredes,

cuantificándose su densidad óptica (DO) como una estimación de la capacidad de formación de biopelículas, para lo cual se lee a 490 nm utilizando un lector de micro ELISA (Stat Fax 303 Plus).

Cada aislado se evaluó por cuadruplicado, incluyendo en cada ensayo ocho pozos controles sin inocular interpretándose estos como negativos y ocho pozos controles con aislados conocidos por sus altas capacidades de formación de biopelículas (4 pozos para *P. aeruginosa* ATCC 27853 y 4 pozos para Complejo *Candida albicans* ATCC 10231) estos últimos se interpretaron como controles positivos⁽¹⁷⁾. La clasificación de cada aislado, en cuanto a su capacidad de formación de biopelículas, fue hecha utilizando el protocolo de Gil y col 2015 [18] el cual consiste en usar el valor de la media aritmética () de las DO obtenidas a 490nm de los controles positivos (DOc pos) y de los controles negativos (DOc neg) en tres fórmulas diferentes tal como sigue: VM: DOc (+) - (DOc -)/2

$$PC1: VM - Doc (-)/2 + DOc (-)$$

$$PC2: (DOc (+) - VM)/2 + VM$$

Donde las siglas significan:

VM: Valor Medio. **DOc (+):** Densidad óptica a 490 nm del Control Positivo.

DOc (-): Densidad óptica a 490 nm del Control Negativo. **PC1:** Primer punto de corte.

PC2: Segundo punto de corte⁽¹⁸⁾

Estos valores sirvieron para establecer los cuartiles de clasificación semicuantitativa de la capacidad de formación de biopelícula en cuatro categorías: Fuerte (F), Moderada (M), Débil (D) y No formadora (N). Interpretado de la siguiente manera: Desde DO del Control negativo hasta valores \leq primer punto de corte: No formadora, Valores $>$ al primer punto de corte y \leq al valor medio: Débilmente formadora, Valores $>$ al valor medio y \leq al 2do punto de corte: Moderadamente formadora, Valores $>$ al 2do punto de corte: Fuertemente formadora [18].

El análisis descriptivo de los datos se expresó mediante tablas. Por otra parte, la asociación de la capacidad de formación de biopelículas con la especie del género *Candida* y con la procedencia clínica se efectuó mediante la prueba Chi-cuadrado (χ^2) de Pearson, con un nivel de confianza de 95%.

Resultados

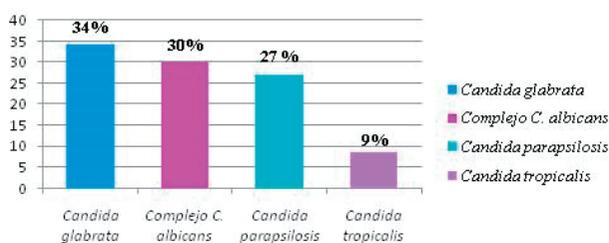


Figura 1. Total de especies aisladas del Género *Candida*

El número total de aislados de especies del género *Candida* de procedencia clínica evaluados en este trabajo de investigación fue de 70, representando el 100%. Las especies identificadas fueron: *Candida glabrata* (34%), Complejo *Candida albicans* (30%), Complejo *Candida parapsilosis* (27%) y *Candida tropicalis* (9%). [Figura N° 1]

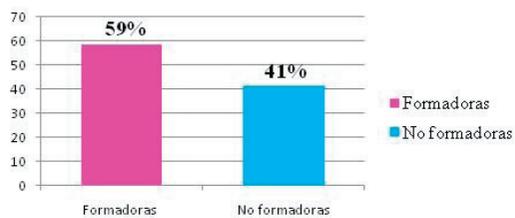


Figura 2. Total de especies aisladas formadoras y no formadoras de biopelículas

Las especies aisladas se agruparon según la capacidad de formación de biopelículas, como formadoras (59%) y no formadoras (41%). [Figura N° 2]

Tabla N° 1. Capacidad de formación de biopelículas en relación a las distintas especies del género *Candida*.

ESPECIE	SI	(%)	NO	(%)	TOTAL	(%)
Complejo <i>C. albicans</i>	12	29	9	31	21	30
<i>Candida glabrata</i>	12	29	12	41	24	34
<i>Candida parapsilosis</i>	11	27	8	28	19	27
<i>Candida tropicalis</i>	6	15	0	0	6	9
Total	41	100	29	100	70	100

En la Tabla N° 1 se presenta la distribución de la capacidad de formación de biopelículas en relación a las distintas especies del género *Candida*, allí se observa que las distintas especies tuvieron esta capacidad, así como también hubo cepas de cada especie que no formaron biopelículas, donde el Complejo *Candida albicans* y *Candida glabrata* fueron las que presentaron mayor capacidad de formación, seguida de Complejo *Candida parapsilosis* y en último lugar *Candida tropicalis*. Sin embargo, al realizar la asociación entre la capacidad de formación de biopelículas con la especie aislada a través de la prueba del Chi-cuadrado de Pearson ($p=0,4174$) se obtuvo que no hubo diferencias estadísticamente significativa ($p > 0,05$). [Tabla 1]

Tabla N° 2. Grado de formación de biopelículas que presentaron las distintas especies del género *Candida*.

ESPECIE	DÉBIL	(%)	FUERTE	(%)	TOTAL	(%)
Complejo <i>C. albicans</i>	2	13	10	40	12	29
<i>Candida glabrata</i>	5	31	7	28	12	29
<i>Candida parapsilosis</i>	3	19	8	32	11	27
<i>Candida tropicalis</i>	6	37	0	0	6	15
Total	16	100	25	100	41	100

Datos propios de la investigación

En la tabla N° 2 se describen los 41 aislados de especies de *Candida* formadoras de biopelículas agrupándose según el grado de intensidad como fuertemente formadora y débilmente formadora. No hubo especies moderadamente formadoras. Se evidencia que Complejo *Candida albicans* obtuvo el mayor porcentaje de fuertemente formadora seguido de Complejo *Candida parapsilosis* y *Candida*

glabrata, siendo *Candida tropicalis* la única especie en que todos sus aislados fueron débilmente formadoras de biopelículas. [Tabla 2]

Tabla 3: Capacidad de formación de biopelículas de especies del Género *Candida* en relación a la procedencia clínica.

PROCEDENCIA	SI	(%)	NO	(%)	TOTAL	(%)
Sec. Herida	1	2,4	7	24,1	8	11,4
Lavado Bronquial	0	0	1	3,5	1	1,4
Urocultivo	10	24,4	4	13,7	14	20
Sec. Pared abdominal	2	4,9	0	0	2	2,9
Sec. Pie diabético	1	2,4	0	0	1	1,4
Hemocultivo	4	9,8	3	10,3	7	10
Espuito	2	4,9	6	20,7	8	11,4
Sec. Vaginal	4	9,8	0	0	4	5,7
Sec. Otica	7	17,1	0	0	7	10
Sec. Ulcera	2	4,9	0	0	2	2,9
Región Maleolar	1	2,4	0	0	1	1,4
Punta de Catéter	2	4,9	0	0	2	2,9
Sec. Bronquial	3	7,3	2	7	5	7,1
Sec. Traqueal	1	2,4	5	17,2	6	8,6
Coprocultivos	1	2,4	1	3,5	2	2,9
Total	41	100	29	100	70	100

Datos propios de la investigación

En la Tabla N° 3 se relaciona la capacidad de formación de biopelículas con la procedencia clínica en la cual se observa que las muestras de orina y secreción ótica son las procedencias en la que se evidencia el mayor porcentaje de cepas capaces de formar biopelículas, seguidas de las que provenían de secreción vaginal y hemocultivo. [Tabla 3]

Tabla 4: Grado de formación de biopelículas en especies del Género *Candida* en relación a la procedencia clínica.

PROCEDENCIA	Baja	(%)	Alta	(%)	TOTAL	(%)
Sec. Herida	0	0,0	1	4,54	1	2,4
*Urocultivo	7	36,8	3	13,64	10	24,4
Sec. Pared abdominal	1	5,3	1	4,54	2	4,9
Sec. Pie diabético	0	0,0	1	4,54	1	2,4
*Hemocultivo	1	5,3	3	13,64	4	9,8
Espuito	1	5,3	1	4,54	2	4,9
Sec. Vaginal	2	10,5	2	9,09	4	9,8
*Sec. Otica	3	15,8	4	18,2	7	17,1
Sec. Ulcera	0	0,0	2	9,09	2	4,9
Región Maleolar	1	5,3	0	0,0	1	2,4
Punta de Catéter	0	0,0	2	9,09	2	4,9
Sec. Bronquial	1	5,3	2	9,09	3	7,3
Sec. Traqueal	1	5,3	0	0,0	1	2,4
Coprocultivos	1	5,3	0	0,0	1	2,4
Total	19	100	22	100	41	100

*Mayor porcentaje de formación de biopelículas

En la Tabla N° 4 se describen 41 aislados de diferentes procedencias clínicas donde hubo formación de biopelículas, a partir de esto se evaluó la relación que tenía la procedencia del proceso infeccioso con

el grado de formar biopelículas. En urocultivo prevalecen cepas con bajo grado de formación de biopelículas, las que provenían de hemocultivo eran en su mayoría altamente formadoras de biopelículas, y las de secreción ótica y vaginal poseían alto o bajo grado de formación de biopelículas en igual porcentaje. [Tabla N° 4].

Tabla 5: Procedencia clínica en relación a las especies del Género *Candida*.

Especie Procedencia	Complejo <i>C. albicans</i>		<i>C.</i> <i>glabrata</i>		<i>C.</i> <i>parapsilosis</i>		<i>C.</i> <i>tropicalis</i>		Total	
	Fa	Fr (%)	Fa	Fr (%)	Fa	Fr (%)	Fa	Fr (%)	Fa	Fr (%)
Sec. Herida	0	0	1	8,3	0	0	0	0	1	2,4
*Urocultivo	1	8,3	6	50	1	9,09	2	33,3	10	24,4
Sec. Pared abdominal	0	0	1	8,3	1	9,09	0	0	2	4,9
Sec. Pie diabético	1	8,3	0	0	0	0	0	0	1	2,4
*Hemocultivo	0	0	0	0	3	27,27	1	16,6	4	9,8
Espuito	1	8,3	0	0	1	9,09	0	0	2	4,9
Sec. Vaginal	4	33,3	0	0	0	0	0	0	4	9,8
*Sec. Ótica	2	16,7	1	8,3	3	27,27	1	16,6	7	17,1
Sec. Ulcera	0	0	0	0	2	18,18	0	0	2	4,9
Región Maleolar	0	0	1	8,3	0	0	0	0	1	2,4
Punta de Catéter	2	16,7	0	0	0	0	0	0	2	4,9
Sec. Bronquial	1	8,3	1	8,3	0	0	1	16,6	3	7,3
Sec. Traqueal	0	0	0	0	0	0	1	16,6	1	2,4
Coprocultivos	0	0	1	8,3	0	0	0	0	1	2,4
Total	12	100	12	100	11	100	6	100	41	100

Fa: Frecuencia absoluta, Fr: Frecuencia relativa

Por otra parte, en la Tabla N° 5 se observa la procedencia clínica en relación a las especies del género *Candida*. La especie más frecuentemente aislada fue *Candida glabrata*, seguida de Complejo *Candida albicans* y Complejo *Candida parapsilosis*, siendo *Candida tropicalis* la menos frecuente. La procedencia clínica donde se aisló más especies del género *Candida* fue urocultivo, seguido de secreción ótica, secreción vaginal y hemocultivo. En donde resalta el predominio de Complejo *Candida albicans* en secreción vaginal, en tanto que *Candida glabrata* y *Candida tropicalis* prevalece en los urocultivos, seguido de Complejo *Candida parapsilosis* en secreciones óticas y hemocultivo. [Tabla N° 5]

Discusión

Al analizar la frecuencia de las especies de *Candida* aisladas de cada procedencia clínica, se obtuvo un mayor porcentaje de *Candida glabrata*. Este dato es importante, ya que a pesar que esta especie es considerada menos virulenta que Complejo *Candida albicans* o *C. tropicalis* debido a la ausencia de pseudohifas, también es cierto que actualmente se presenta como un patógeno oportunista emergente [19]. Existen investigaciones que han demostrado que *C. glabrata* produce proteinasas y que la hidrofobicidad de su superficie celular es similar a la de *C. albicans*, lo que asegura su capacidad de adherencia a las células del huésped, evidenciándose una rápida diseminación de las infecciones por *C. glabrata* en los enfermos inmunodeprimidos, en quienes se produce una elevada tasa de mortalidad. Este comportamiento se ve favorecido por alteraciones del huésped que contribuyen al desarrollo de las infecciones por esta especie, entre ellas la disminución en los niveles de IgA secretora vaginal, una menor respuesta inflamatoria y sobre todo, una disminución cuantitativa o cualitativa de los linfocitos T, hecho que explica su mayor frecuencia en los paciente con SIDA, trasplantados y con neoplasias [19].

En relación a Complejo *Candida albicans* en la presente investigación fue la segunda especie más aislada, lo cual es controversial con otras investigaciones de años anteriores, como la de Harriott y Noverr 2012, que expresan que la especie con mayor incidencia en las muestras clínicas es el Complejo *Candida albicans* [20]. Esto pone de manifiesto, que no solo las especies de *Candida* no *albicans* vienen en constante aumento, sino que además está superando al Complejo *Candida albicans*. Sin embargo, se mantiene que la especie más aislada en secreciones vaginales es *Candida albicans* lo cual coincide con Ciudad-Reynaud 2007 [21], aunque García en el 2009 reportó aumento de *C. glabrata* en vulvovaginitis [22]. Estos datos son

médicamente relevantes debido a que el Complejo *Candida albicans*, tiene la propiedad de producir una mayor secreción de proteinasas aspárticas (Saps), lo cual conlleva una importante implicación clínica, ya que las Saps pueden comprometer la integridad normal de la vagina por hidrólisis de la inmunoglobulina A de la mucosa, una de las más efectivas barreras vaginales contra la infección [23]. Además de ser capaz de formar biopelículas bajo un intervalo amplio de pH y temperatura [6].

Por su parte, Complejo *C. parapsilosis* aún cuando es menos virulenta que *C. albicans*, en los últimos años se ha destacado como principal agente causal de candidemias de origen exógeno a partir de las manos del personal de salud, originando brotes de infección hospitalaria especialmente en recién nacidos y adultos jóvenes usualmente asociados a la presencia de dispositivos venosos centrales y alimentación parenteral, de allí que en la presente investigación se observó esta especie principalmente en hemocultivos [24, 25].

En tanto, *Candida tropicales* a pesar de ser la especie que se aisló en menor proporción, no deja de tener importancia clínica, pues aunque los factores de virulencia son menos conocidos, se ha estudiado que la secreción de hidrolasas y otras enzimas, así como la formación de biopelículas y el dimorfismo, son mecanismos que favorecen la colonización e invasión a los tejidos a la vez que evade al sistema inmune [26].

Conocer el comportamiento de agentes infecciosos en relación a la capacidad de formación de biopelículas ayuda a entender por qué en ocasiones el tratamiento con antimicrobianos sensibles *in vitro* no funciona *in vivo*, persistiendo de esta manera la infección en el organismo [27]. Estos conocimientos tienen que apuntar a la búsqueda de sustancias que no solo elimine al microorganismo en forma planctónica, sino también en estado sésil. Al analizar la

capacidad de formación de biopelículas en relación a las distintas especies del género *Cándida* se observa que indistintamente a la especie involucrada todas presentaron esta capacidad, así como también hubo cepas de cada especie que no formaron biopelículas, por lo tanto no hubo diferencias significativas en relación a la especie, sin embargo Treviño 2011 y Rossignol y cols, 2009, aseguran que Complejo *Candida parapsilosis* produce menor formación de biopelículas que el Complejo *Candida albicans* [23,28], ya que existen diferencias considerables entre las biopelículas generadas por Complejo *Candida parapsilosis* pues estas son más pequeñas y simples al no formar hifas, aunque esto depende de la concentración de glucosa disponible, en cambio las biopelículas generadas por el Complejo *Candida albicans* son más complejas y forman hifas que le confiere una mayor capacidad de formar biopelículas [28].

Por otra parte, Tournu y Van Dijck 2012, mencionan que la especie con mayor grado de formación de biopelículas es el Complejo *Candida albicans* [8]. No obstante, en la presente investigación no se evidenció diferencias estadísticamente significativas entre la especie y el grado de intensidad de formación de biopelículas ($p=0.1395$).

En relación a la capacidad de formación de biopelículas de especies del género *Candida* en relación a la procedencia clínica en esta investigación se evidenció porcentajes más altos de formación de biopelícula en las cepas que provenían de muestras de orina y de secreciones especialmente (ótica y vaginal). Estos resultados coinciden con Castrillón y cols, en el año 2013 afirmaron que las especies que tenían mayor tendencia a formar biopelículas provenían de orina, por otra parte dicen que las que provienen de sangre y mucosas también poseen con frecuencia esta capacidad [11].

Esto se debe a diversos factores, como el flujo del medio que las rodea (orina, sangre y moco), el pH, la temperatura y además esto ayuda a la adhesión y colonización de estas especies de *Candida*; recordando que la formación de la matriz extracelular favorece en buena medida la adhesión celular y la maduración de la biopelícula [2]. Sin embargo en la presente investigación al aplicar la prueba de Chi-cuadrado (χ^2) no se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa.

Por otra parte, Winn y cols, en el 2008, al igual que Fidel y cols en 1999, expresan que la especie que se aísla con más frecuencia en urocultivo es *Candida glabrata*, concordando con esta investigación [16, 29].

La candiduria aparece hasta en un 5% de los cultivos de orina y un 25% de los pacientes hospitalizados, aumentando el riesgo en pacientes en edad avanzada e institucionalizados. Los factores predisponentes para la colonización e infección urinaria por *Candida* son la presencia de alteraciones estructurales de la vía urinaria, fundamentalmente la presencia de sonda vesical, diabetes mellitus y tratamiento antibiótico de amplio espectro [16,29] y las interacciones con otros microorganismos, pues Complejo *C. albicans* junto a *S. aureus*, incrementan la actividad metabólica, el desarrollo y la complejidad de las biopelículas que se forman, lo que resulta en el aumento de su virulencia [30].

En cuanto al grado de formación de biopelículas en especies del género *Candida* en relación a la procedencia clínica Tournu y Van Dijck en el año 2012 afirmaron que, las especies que provenían de hemocultivos tenían tendencia hacer fuertemente formadoras de biopelículas, seguida de punta de catéter, secreciones óticas y vaginales estos resultados tienen similitud con esta investigación [8]. Estos resultados son coherentes debido a que son áreas que por lo general ofrecen condiciones propicias para que las especies del género *Candida* puedan instalarse y de esta manera provocar infecciones recurrentes con participación de formación de biopelículas, generalmente en grado fuerte. Sin embargo, al asociar ambas variables aplicando la prueba de Chi-cuadrado (χ^2) se

obtuvo que no hay asociación estadísticamente significativa entre la procedencia y el grado de intensidad de formación de biopelículas ($p=0,3716$). La presente investigación concluye en primer lugar, que las principales especies presentes en diversos procesos clínicos son *Candida glabrata*, seguida de Complejo *Candida albicans* y las menos frecuentes Complejo *Candida parapsilosis* y *Candida tropicalis*, siendo este un dato importante ya que coincide con otros autores en que la frecuencia de *Candida no albicans* se ha incrementado en los procesos infecciosos causados por levaduras.

Así mismo, se demuestra que todas las especies del Género *Candida* son capaces de formar o no biopelículas en diferentes grados en un momento determinado.

Finalmente, se determinó que no hay relación entre la capacidad de formación de biopelículas y el grado de formación con la procedencia clínica, así como tampoco hay asociación entre la capacidad de formación de biopelículas y grado de formación con la especie involucrada.

Conflictos de interés

Los autores declaran no tener conflictos de interés.

Referencias

1. Cornistein W, Mora A, Orellana N, Capparelli F, Del Castillo M. *Candida: epidemiología y factores de riesgo para especies no albicans*. *Enferm Infecc Microbiol Clin*; 2013 380-384
2. Castrillón L, Palma A, Padilla M. Factores de virulencia en *Candida sp*. *Dermatología Rev Mex*. 2005; 49:12-27.
3. Betancourth M, Botero J, Rivera S. Biopelículas: una comunidad microscópica en desarrollo. *Col Med*. 2010; 35(3):34-39.
4. Pemán J, Cantón E, Valentín A. Actividad de la micafungina sobre biopelículas de *Candida*. *Rev Iberoam Micol*. 2008; 25: 124-128.
5. Maestre M, Maestre J. Biofilm: modelo de comunicación bacteriana y resistencia a los antimicrobianos. *Rev Esp Quimioterap*. 2004; 17(1):26-28.
6. Merino G, Cedillo L, Silva F, Muñoz A, Castañeda E. Análisis morfológico de biopelículas de *Candida albicans* producidas en diferentes condiciones de pH y temperatura analizadas por microscopía óptica y de fuerza atómica. *Rev Mex Micol*. 2011; 33: 1-8.
7. LaFleur M, Lucumi E, Napper A, Diamond S, Lewis K. Novel high-throughput screen against *Candida albicans* identifies antifungal potentiators and agents effective against biofilms. *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66: 820-826.
8. Tournu H, Van Dijck P. *Candida* Biofilms: Models and New Concepts for Eradication. *International Journal of Microbiology*. 2012; 16 páginas.
9. Da Silva W, Seneviratne J, Parahitiyawa N, Ribeiro E, Samaranyake L, Del Bel A. Improvement of XTT Assay Performance for Studies Involving *Candida albicans* Biofilms. *Braz Dent J*. 2008; 19(4): 364-369.
10. Maisch T, Shimizu T, Isbary G, et al. Contact-Free Inactivation of *Candida albicans* Biofilms by Cold Atmospheric Air Plasma. *Applied and Environmental Microbiology*. 2012; 78(12): 4242-4247.
11. Castrillón L, Palma A, Padilla M. Biopelículas fúngicas. *Dermatol Rev Mex* 2013;57:350-361
12. Valentín A, Cantón E, Pemán J, Quindós G. Actividad *in vitro* de la anfotericinaB y la anidulafungina sobre biopelículas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*. *Rev Iberoam Micol*. 2007; 24: 272-277.

13. Li Y, Ma Y, Zhang L, *et al.* *In Vivo* inhibitory effect on the biofilm formation of *Candida albicans* by liverwort derived riccardin D. *PLoS ONE*. 2012; 7(4): 1-8.
14. Sierra C. Estrategias para la elaboración de un proyecto de investigación. Valencia. 2004:55-58
15. Fidias A, Lerma H. El proyecto de investigación: Introducción a la investigación científica. 6ta Ed. Episteme, Caracas. 2012: 24-36
16. Winn W, Allen S, Jandan W, *et al.* Koneman Diagnóstico Microbiológico Texto y Atlas a Color. 6ta Ed. Médica Panamericana, Buenos Aires. 2008: 1167-1172
17. Rojas T, Montoya A, Moreno A, Mujica R, Vásquez Y. Formación de biopelículas y susceptibilidad antimicrobiana entre coliformes aislados en agua potable embotellada en Carabobo, Venezuela. *Bol. Mal. Salud Amb.* 2012; 52(1): 87-97.
18. Gil M, Merchán K, Quevedo G *y cols.* Formación de Biopelículas en aislados de *S. aureus* según la susceptibilidad antimicrobiana y la procedencia clínica. *Rev Vitae* 2015; 62 (2):1-8
19. Muñoz G. *Candida glabrata*: un patógeno emergente. *Biociencias* 2015; 10 (1): 89 – 102
20. Harriott M y Noverr M. Importance of *Candida*-bacterial polymicrobial biofilms in disease. *Trends Microbiol* 2011; 19(11): 557–563.
21. Ciudad-Reynaud A. Infecciones vaginales por *Candida*: Diagnóstico y Tratamiento. *Rev Per Ginecol Obstet.* 2007; 53 (3):159-166
22. García R, Araiza J, Basurto E, Bonifaz A. *Candida glabrata*: Un oportunista emergente en vulvovaginitis. *Cir Ciruj* 2009; 77:455-460.
23. Treviño R. Identificación molecular y caracterización fenotípica de aislamientos clínicos del complejo *Candida parapsilosis*. [Tesis Doctoral]. Nuevo León, México: Universidad Autónoma de Nuevo León, 2011. [Consultado 15 febrero 2016] Disponible en: <http://eprints.uanl.mx/2885/1/1080221606.pdf>
24. Saúl Y, Hernández R. Aislamiento de *Candida spp.* en ambiente y personal que labora en una unidad de cuidados intensivos. *Rev. Sociedad Venez de Microbiol* 2014; 34:27-32
25. Tapia C, Correa N. *Candida parapsilosis* complex. *Rev. chil. infectol.* 2015; 32 (5):569-570
26. Kothavade R, Kura M, Valand A, Panthaki M. *Candida tropicalis*: its prevalence, pathogenicity and increasing resistance to fluconazole. *J Med Microbiol* 2010; 59 (8): 873–880
27. Pozo J, Cantón E. Candidiasis asociada a biopelículas. *Rev Iberoam Micol* 2016;33(3): 176-183
28. Rossignol T, Ding C, Guida A, d'Enfert C, Higgins D y Mayordomo G. Correlation between Biofilm Formation and the Hypoxic Response in *Candida parapsilosis*. *Eukaryot Cell.* 2009. 8(4): 550-559.
29. Fidel P, Vázquez J, Sobel J. *Candida glabrata*: review of epidemiology, pathogenesis, and clinical disease with comparison to *Candida albicans*. *Clin Microbiol Rev.* 1999;12:80-96.
30. Ibarra C, Villar M, Gaitán L, Pozos A, Mendoza R, Sánchez L. Ensayo de formación y cuantificación de biopelículas mixtas de *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*. *Rev Iberoam Micol.* 2012; 29(4):214–22.