

Identificación bioquímica y estandarización de la extracción de ADN de especies de *Candida* aisladas de microbiota vaginal

Cindy Nataly del Río Arellano^a, José Cristóbal Cstañeda Ramírez^c, Jesus Antonio Morlett Chavez^c y Norma M. De la Fuente-Salcido^{a,b}

^a Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Biológicas.

^b Bioprospección y Bioprocesos, Blvd Torreón-Matamoros Km. 7.5. 27276 Coahuila, México.

^c Universidad Tecnológica del Suroeste de Guanajuato, Carr. Valle de Santiago - Huanímaro Km. 1.2 Valle de Santiago, Guanajuato

^d Universidad Autónoma de Coahuila, Facultad de Ciencias Químicas, Blvd. V. Carranza s/n esq. Con Ing. José Cárdenas Valdés. Col. República Ote.

* [normapbr322@gmail.com](mailto:normapr322@gmail.com)

Palabras clave: *Candida*, CHROMagar, Vitek, Extracción, ADN.

Introducción

Más de 40 especies del género *Candida* han sido aisladas de muestras humanas las cuales están implicadas en infecciones potencialmente mortales, particularmente en huéspedes inmunocomprometidos¹. La mayoría de las candidiasis son causadas por *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *Pichia kudriavzevii* (*Candida krusei*), y *C. parapsilosis*². Los métodos convencionales de identificación incluyen cultivos en sangre, examen microscópico e identificación bioquímica, los cuales invierten más tiempo y son menos precisos³. Por otro lado, CHROMagar *Candida* identifica especies de *Candida* (*albicans*, *glabrata*, *tropicalis*, y *krusei*) basado en la reacción adecuada del cromógeno debido a la acción de la beta-glucosidasa, que produce diferentes colores.

Metodología

Todos los participantes leyeron y firmaron la carta de consentimiento informado para participar en el estudio. Se procesaron 51 muestras de exudados vaginales las cuales fueron cultivadas en agar dextrosa Sabouraud a 28 °C por 72 horas. Además, se realizó extracción de ADN. Los aislados fueron cultivados en CHROMagar *Candida*TM a 37 °C por 72 horas. La identificación bioquímica se efectuó mediante VITEK 2 (bioMérieux^{MR}), las muestras fueron ajustadas a una absorbancia de 1.8-2.8 con el densicheck para su identificación y pruebas de sensibilidad antimicrobiana.

Extracción de DNA

Para la extracción de ADN se utilizó la técnica fenol:cloroformo. Se transfirieron una o más colonias cultivadas a un microtubo que contenía 50 µL de buffer de STES. El ADN extraído se resuspendió en 50 µL de TE, para su posterior cuantificación en nanodrop (Nanodrop 2000).

Resultados y discusión

Las 51 muestras aisladas se identificaron por sistema VITEK 2 (bioMérieux^{MR}), *C. albicans* (47%), *C. krusei* (51%) y *C. tropicalis* (2%) (Fig. 1). En CHROMagar *Candida*, se obtuvo *C. albicans* (43%), *C. krusei* (51%) y *C. tropicalis* (2%) respectivamente (Fig. 2 y 3). Se utilizaron 158.8 ng de ADN total para cada especie para visualizarlo en gel de agarosa (3%) teñido con bromuro de etidio (Bio-rad, 10ml) (Fig.4).

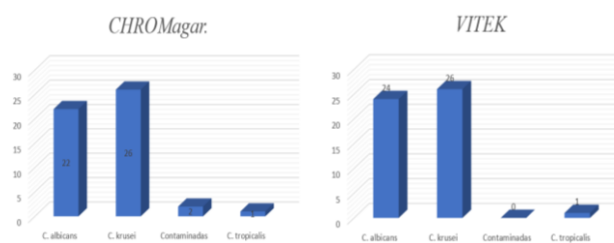


Figura 1. Total, de aislados bioquímicamente identificados por especie en sistema VITEK 2 (bioMérieux^{MR}).

Figura 2. Total, de aislados identificados por especie en CHROMagar *Candida*TM.

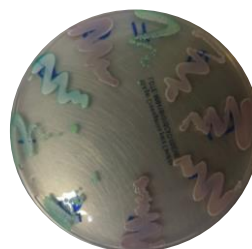


Figura 3. Crecimiento de *Candida albicans* (verde), *Candida krusei* (rosa) en CHROMagar *Candida*.

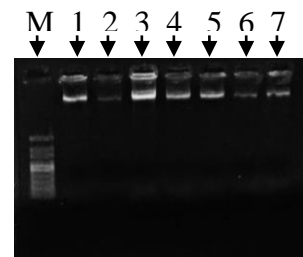


Figura 4. Electroforesis de extracción de DNA de *Candida albicans* (Carril 2 y 6) y *C. krusei* (carril 1,3,4,5 y 7). M: marcador de 100 pb

Los resultados obtenidos por el sistema VITEK 2 (bioMérieux^{MR}) y CHROMagar *Candida* muestran una correlación del 98%, por lo cual se infiere que son específicos para la identificación de *Candidas* especies *albicans*, *krusei* y *tropicalis*. La diferencia del 2% se puede atribuir a diversas contaminaciones a las que dicho método está expuesto.

Conclusiones

Las técnicas para identificación bioquímica por VITEK y extracción de ADN por fenol:cloroformo son eficientes y rápidas, confirmándose mediante electroforesis y cuantificación de ADN para diversas especies de *Candida*.

Referencias

Criseo, G., Scordino, F., & Romeo, O. *Journal of Microbiological Methods* **2015**, *111*, 50–56.
Shokohi, T., Aslani, N., Ahangarkani, F., Meyabadi, M. F., Hagen, F., Meis, J. F., ... Badali, H. *Microbial Pathogenesis* **2018**, *115*, 353–357.

Jiang, X., Dong, D., Bian, L., Zou, D., He, X., & Ao, D. *Front. Microbiol* **2016**, *7*, 1–6