BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

Frecuencia de *Candida albicans* y otros microorganismos en faringe, en la comunidad de Honey, municipio de Huauchinango, Puebla

TESIS

PARA OBTENER EL TITULO DE

LICENCIADO EN QUIMICO FARMACOBIOLOGO

PRESENTA

JORGE ALBERTO IBARRA CABAÑAS

DIRECTORA: M.C PATRICIA GUADALUPE SUÁREZ ALBORES

ASESOR: M.S.P. CLAUDY L. VILLAGRÁN PADILLA

ABRIL-2016

AGRADECIMIENTOS

Con la mayor gratitud por los esfuerzos realizados para que yo lograra terminar mi carrera profesional siendo para mí la mejor herencia:

A mi madre que es el ser más maravilloso de todo el mundo.

Gracias por el apoyo moral, tu cariño y comprensión que desde niño me has brindado, por guiar mi camino y estar junto a mí en los momentos más difíciles.

A mi padre porque desde pequeño ha sido para mí un gran hombre al que siempre he admirado.

Gracias por guiar mi vida con energía, esto ha hecho que sea lo que soy.

Con amor, admiración y respeto.

DEDICATORIA

Primeramente doy gracias a Dios por la oportunidad de vivir, por obsequiarme una grandiosa familia y darme la fuerza necesaria para salir adelante en cada tropiezo.

A mis padres, por enseñarme a crecer y a que si caigo debo levantarme, por apoyarme y guiarme, por ser las bases que me ayudaron a llegar hasta aquí.

A mis hermanos por estar conmigo en momentos difíciles y animarme a seguir adelante.

A la M.C. Patricia y M.S.P Claudy por la confianza, la paciencia y el tiempo que me brindaron en este largo proceso.

A los sinodales que se dieron el tiempo para revisar esta tesis y hacer sus respectivas observaciones para mejorarla.

A mis amigos con los que compartí grandes y divertidos momentos en estos últimos 5 años de mi vida.

“Sigamos avanzando, abriendo nuevas puertas y haciendo cosas nuevas, porque somos curiosos y la curiosidad nos guía a nuevos caminos”

Walt Disney

“Hazlo por ellos……”

ÍNDICE

	PÁGINA
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
MARCO TEÓRICO	4
MARCO DE REFERENCIA	19
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	21
JUSTIFICACIÓN	22
OBJETIVO GENERAL	23
OBEJTIVOS PARTICULARES	23
DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	24
METODOLOGÍA	25
MATERIAL	26
ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO	27
ESQUEMAS DE IDENTIFICACIÓN	28
RESULTADOS	32
DISCUSIÓN DE RESULTADOS	35
CONCLUSIÓN	37
BIBLIOGRAFÍA	38
ANEXOS	40

RESUMEN

Las infecciones de vías aéreas son de las enfermedades más frecuentes que se presentan en las personas, son en general de escasa gravedad y tienden a ser autolimitadas, pero, por su gran frecuencia, son una de las principales causas de ausentismo escolar y laboral y, aunque una gran mayoría de los enfermos se automedica constituyen también la principal causa de consulta médica. Estas son más frecuentes en el periodo invernal debido a la mayor probabilidad de transmisión, ya que las personas permanecen mayor tiempo en ambientes cerrados con mayor hacinamiento y las microgotas contagiosas mantienen su humedad por más tiempo en dicho periodo.

En este trabajo se realizaron cultivos de exudado faríngeo de 100 habitantes de la comunidad de Honey para la búsqueda de *Candida albicans* y otros microorganismos más frecuentes que pudieran causar una infección. Se les proporcionó una encuesta para observar con qué frecuencia se consume alcohol, cigarros, consumen alimentos fuera de casa. Demostrando que el 50% de la población consume sustancias como alcohol y cigarros y un 40% de los habitantes consume alimentos fuera de casa.

En este trabajo fueron utilizados métodos convencionales para la obtención del exudado faríngeo, así como las técnicas para su cultivo, aislamiento e identificación de microorganismos.

Dentro de los resultados obtenidos se aisló *Candida albicans* en un 16% del total de los habitantes muestreados, *Staphylococcus aureus* se aisló en un 19% y enterobacterias en un 6%, *Moraxella catarrhalis* en el 1% de los casos y se obtuvo un resultado negativo en la búsqueda de *Streptococcus pyogenes.*

INTRODUCCIÓN

Honey es uno de los 217 municipios que conforman al estado mexicano de Puebla. Se localiza en la región de Huauchinango, al norte del estado. La cabecera de este municipio es la población del mismo nombre, aunque también se le conoce con el nombre de Chila Honey. El nombre del municipio fue tomado en honor de Ricardo Honey. Se localiza en el noroeste del estado de Puebla. Limita al norte, oeste y sur con el estado de Hidalgo y al oriente con el municipio poblano de Pahuatlán. Forma parte de la región de la Sierra Norte de Puebla, que a su vez es una de las cadenas montañosas que componen la Sierra Madre Oriental. Como otras partes del norte poblano, el municipio de Honey tiene un relieve muy accidentada. Las elevaciones alcanzan una altitud de 1300 metros sobre el nivel del mar (msnm). Una pequeña porción del territorio desagua en la cuenca del río Pánuco, aunque las corrientes más importantes que nacen en las montañas de Honey son tributarias de la cuenca del río Tuxpan. El clima dominante es frio con abundante lluvia en verano. (Figuras 1 y 2)

Figura 1: localización del municipio de Honey.

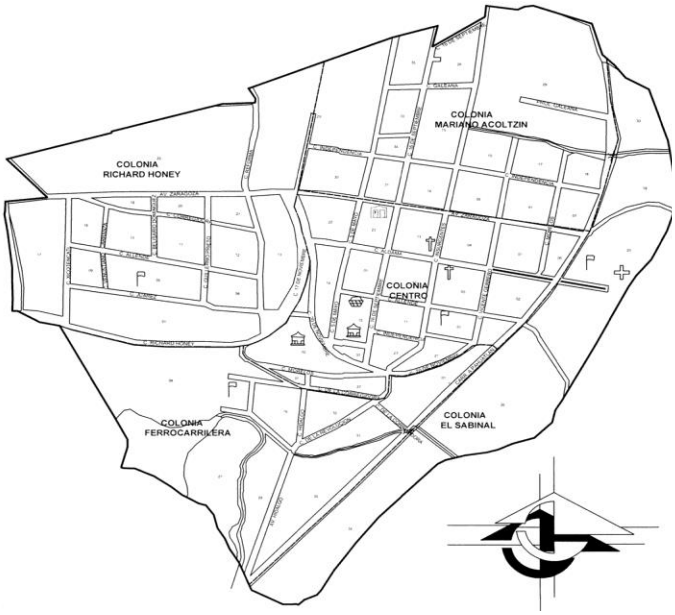


Figura 2: Croquis del municipio de Honey, Puebla

Las infecciones de vías respiratorias en la comunidad de Honey ocupan el 2° lugar en el municipio ya que se ha reportado constantes resfriados, faringoamigdalitis y neumonía. El primer lugar de las enfermedades frecuentes en la población se presenta diabetes e hipertensión, seguido por infecciones de vías urinarias y por último se presentan las infecciones gastrointestinales. (Tabla 1)

Tabla 1: Enfermedades más frecuentes en la población de Honey

Enfermedades	Frecuencia con las que se presenta
Diabetes e hipertensión	60.7%
Infecciones de vías respiratorias: faringoamigdalitis, neumonía, laringitis.	44.3%
Infecciones de vías urinarias: vaginitis	34.7%
Infecciones gastrointestinales.	26.6%

- INEGI. Censo de Población y Vivienda, 2010.
- Secretaría de Salud del Estado de Puebla.

Las principales causas de mortalidad en la población se presentan en la Tabla 2 y en la cual podemos observar que enfermedades como bronquitis y neumonía ocupan el tercer lugar de las causas de muertes en los habitantes. La neumonía puede ser causada por bacterias que primeramente generen infecciones de vías respiratorias altas y una neumonía secundaria si no es tratada adecuadamente dicha infección.

Tabla 2: Principales causas de mortalidad en los habitantes de la comunidad

Causas de mortalidad en la población	Tasa de mortalidad (Muertes por cada 100 mil habitantes
Enfermedades del corazón	60.6
Tumores malignos	45.4
Bronquitis crónica y la no especificada, asma y enfisema	45.4
Accidentes	45.4
Diabetes mellitus	30.3

- INEGI. Censo de Población y Vivienda, 2010.
- Secretaría de Salud del Estado de Puebla.
- Elaboración propia con base en Estadísticas de Mortalidad y Natalidad, 2010 y Proyección de Población, CONAPO.

MARCO TEÓRICO

El aparato respiratorio es un complejo conjunto anatómico en el que participan los pulmones, bronquios, tráquea, faringe, cavidad nasal diversas partes del sistema nervioso central relacionados con el control de la ventilación, los músculos respiratorios y la caja torácica. La principal función del aparato respiratorio es el intercambio gaseoso, aunque también posee otras funciones importantes, como son el mantenimiento del equilibrio ácido-base, la fonación, la defensa frente a los agentes nocivos contenidos en el aire ambiental y diversas funciones metabólicas. (Tresguerres, 2005)

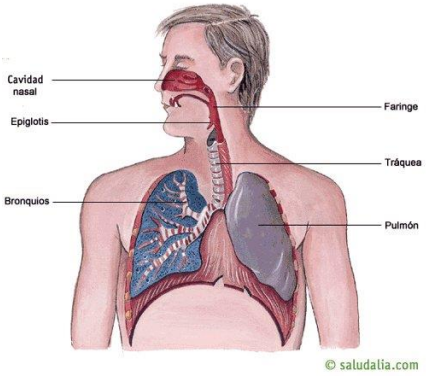


Figura 3: Estructura de las vías aéreas superiores e inferiores http://www.saludalia.com/atlas/aparato-respiratorio#faparato-respiratorio

La vía aérea se subdivide en dos porciones principales, la superior y la inferior. La porción superior está constituida por la nariz, cavidad oral y la faringe. La porción inferior está constituida por la laringe, la tráquea y el árbol bronquial. (Figura 3) (Tresguerres, 2005)

Vía aérea superior

Desempeña un papel en la prevención de la entrada de materiales extraños en el árbol traqueobronquial. La faringe está dividida en tres partes: nasofaringe, orofaringe y laringofaringe (Figura 4). La nasofaringe tiene localización posterior respecto a la cavidad nasal y superior respecto al paladar blando. La orofaringe se dispone entre el paladar blando y la base de la lengua, y supone el punto de encuentro entre la cavidad oral y nasal. La laringofaringe es el espacio existente entre la base de la lengua y la entrada al esófago. (Tresguerres, 2005)

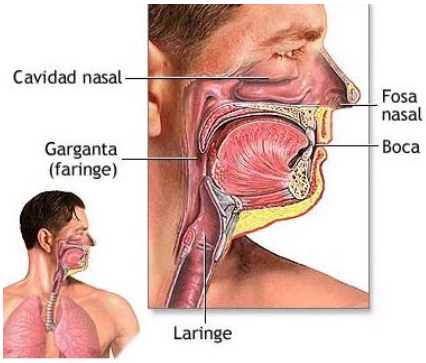


Figura 4: Vías aéreas superiores

MICROBIOTA EN EL HUMANO

En el cuerpo humano existe gran población de microorganismos, principalmente bacterias, que se concentran en la piel y en las membranas mucosas que recubren

la boca, el intestino y los aparatos excretor y reproductor. Dichos microorganismos son en su mayoría benéficos y, en ocasiones, son incluso necesarios para mantener un buen estado de salud. Sin embargo, existen otros microorganismos denominados patógenos que colonizan, invaden y dañan el cuerpo humano a través de mecanismos directos e indirectos, en un proceso que desemboca en enfermedades infecciosas. Para acceder a los nutrientes que se hayan en el hospedador, los patógenos emplean diversas estrategias, tales como la producción de estructuras de adhesión especializadas, de factores del crecimiento específicos, de enzimas invasivas y de potentes toxinas. Generalmente, todos estos factores dañan al hospedador y, en ocasiones, llegan a causar la muerte. (Murray, 2009)

Microbiota normal de faringe

Las vías respiratorias altas están colonizadas por numerosos microorganismos y existen entre 10 y 100 bacterias anaerobias por cada bacteria aerobia. Las bacterias anaerobias más frecuentes pertenecen al género *Peptostreptococcus* y a otros cocos anaerobios relacionados, *Veillonella, Actinomyces* y *Fusobacterium.* Las bacterias aerobias más frecuentes se incluyen en los géneros *Streptococcus, Haemophilus* y *Neisseria.* La proporción relativa de estos microorganismos varía según las diferentes localizaciones anatómicas, por ejemplo, la microbiota presente en la superficie de un diente es muy distinta de la flora salival o de la existente en los espacios subgingivales. La mayor parte de los microorganismos comunes en las vías respiratorias superiores son relativamente avirulentos y a no ser que sean introducidos en localizaciones normalmente estériles, pocas veces se asocian a enfermedad. Sin embargo, también pueden aparecer microorganismos potencialmente patógenos en las vías respiratorias superiores, como *Streptococcus pyogenes, Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Neisseria meningitidis, Haemophilus influenzae, Moraxella catarrhalis* y Enterobacterias. El aislamiento de estos microorganismos en muestras de vías respiratorias superiores no define su patogenicidad. Su participación en un proceso patológico se debe demostrar por exclusión de otros patógenos. (Madigan, 2009)

ACCIONES BENÉFICAS PARA EL HUÉSPED

Las bacterias autóctonas del hombre desempeñan un papel importante en la prevención de ciertas enfermedades bacterianas, por medio de un conjunto de acciones que constituyen el antagonismo bacteriano, el cual, inhibe el crecimiento de muchas bacterias y hongos potencialmente patógenos en lugares superficiales donde, de no ser así, podrían producirse enfermedades. Su importancia para mantener el equilibrio microbiano en la boca y en las vías digestivas queda evidenciada por el hecho de que, durante el tratamiento con antibióticos de amplio espectro, durante muchos días y a grandes dosis, se inhibe el crecimiento

bacteriano de la microbiota. Como consecuencia aparecen infecciones por *Candida* y *Staphylococcus.* (Farias, 2003)

PATOGENIA DEL TRACTO RESPIRATORIO

Los microorganismos causan enfermedad sobre todo por un número limitado de mecanismos patogénicos. El cuerpo humano entra en contacto con los microorganismos muchas veces al día, sin embargo, el desarrollo de una infección después de esos contactos tiende a ser la excepción en lugar de la regla. (Tabla 1) (Koneman, 2008)

TABLA 1

Microorganismos patogenos presentes en la nasofaringe y la orofaringe de las personas.	
Posibles patogenos	
Acinetobacter	*Moraxella catarrhalis*
Estreptococos betahemoliticos	*Candida albicans*
Streptococcus pneumonie	*Virus herpes simple*
Staphylococcus aureus	*Enterobacteriaceae*
Neisseria meningitidis	Especies de *Mycobacterium*
Especies de *Mycoplasma*	Especies de *Pseudomonas*
Haemophilus influenza	*Burkholderia cepacia*
Haemophilus parainfluenza	*Hongos filamentosos*
Entamoeba gingivalis	*Klebsiella ozaenae*
Trichomonas tenax	*Eikenella corrodens*
Haemophilus aphrophilus	Especies de *Bacteroides*

INFECCIONES DE VÍAS RESPIRATORIAS ALTAS

Las infecciones de vías aéreas son de las enfermedades más frecuentes que se presentan en las personas. Constituyen una importante causa de morbilidad y mortalidad en todas las edades.

Según la localización de estas infecciones, se pueden clasificar en infecciones de tracto respiratorio alto y bajo. De acuerdo a la etiología pueden ser de origen bacteriano, viral, parasitario y fúngicas. (Tortora 2009)

Se consideran infecciones de vías respiratorias altas (IVRA) aquellas que afectan: (Koneman, 2008)

- Nasofaringe
- Orofaringe
- Laringe
- Tráquea
- Oído
- Senos paranasales

Las IVRA son en general de escasa gravedad y tienden a ser autolimitadas, pero, por su gran frecuencia, son una de las principales causas de ausentismo escolar y laboral y, aunque una gran mayoría de los enfermos se automedica constituyen también la principal causa de consulta médica. Las IVRA pueden afectar a cualquier individuo, pero son más frecuentes e intensas en niños, probablemente debido a la

ausencia de inmunidad específica. A medida que el individuo envejece y se inmuniza por las infecciones que sufre, las IVRA son menos frecuentes. Con excepción de aquellas personas que estén inmunocomprometidas. Estas son más frecuentes en el periodo invernal debido a la mayor probabilidad de transmisión, ya que las personas permanecen mayor tiempo en ambientes cerrados con mayor hacinamiento y las microgotas contagiosas mantienen su humedad por más tiempo en dicho periodo. (Morse, 2005) (Llop, 2001)

Los principales agentes causantes de IVRA son *Streptococcus pyogenes, Candida albicans*, Adenovirus, Parainfluenza, *Haemophilus influenzae* tipo b.

Las enfermedades del tracto respiratorio superior reciben su nombre de acuerdo con los sitios anatómicos involucrados. Las infecciones de vías respiratorias altas son: (Prescott, 2002)

Sitio anatómico	**Nombre de la infección**
Fosas nasales	Rinitis
Faringe y amígdalas	Faringoamigdalitis
Epiglotis	Epiglotitis
Oído	Otitis media
Laringe, tráquea y bronquios	Laringotraqueobronquitis

FARINGOAMIGDALITIS

Son IVRA que afectan frecuentemente tanto a niños como adultos. Es una inflamación que afecta a la nasofaringe u orofaringe y produce dolor de garganta acompañado de fiebre y malestar general, se manifiesta con dolor faríngeo, eritema y edema de los tejidos afectados, puede existir exudado, petequias hemorrágicas y placas de células inflamatorias, presentes en una infección bacteriana. La presencia de vesículas y lesiones ulcerativas son comunes en las infecciones virales y la formación de aftas o placas blanquecinas con base erosionada se presentan en una candidiasis faríngea. (Álvarez, 2009) (Farías, 2003)

La faringitis estreptocócica debe ser diferenciada de otras faringitis causadas por otro grupo de bacterias, ya que puede tener complicaciones supurativas y no supurativas. (Farías, 2003)

La etiología está fuertemente influenciada por la edad. En los niños, la mayoría de las faringitis es causada por virus y raramente por bacterias, aunque en los últimos años parece presentarse un incremento de faringitis causada por bacterias. (Farías, 2003)

El 70 – 80% de todas las faringitis son producidas por virus (Adenovirus, Rinovirus, Enterovirus, Influenza A y B), entre las bacterias el estreptococo β-hemolítico del grupo A (*Streptococcus pyogenes*), que causa del 15-20% de las faringitis y en un pequeño porcentaje del 3-5% son causadas por levaduras dentro de las cuales destaca *Candida albicans*. (James et al, 2009)

Candida albicans

Esta levadura es causante del "muguet", el cual es una enfermedad bastante común en recién nacidos. Se ve en forma de numerosas manchas blancas que revisten la lengua y la boca. Al nacer, los recién nacidos carecen de microbiota normal en el área bucofaríngea. Si la vagina materna esta densamente infectada por *C. albicans,* la vía respiratoria del recién nacido se coloniza a su paso por el canal de parto. El muguet se produce porque otros microorganismos no pueden inhibir el crecimiento de *C. albicans*. Una vez que el recién nacido ya ha desarrollado su microbiota bucofaríngea normal, el muguet se hace infrecuente. (Arenas, 2011) (Bonifaz, 2010)

Se han descrito más de 100 especies del género *Candida,* aunque tan solo un pequeño número de ellas se ha implicado en infecciones clínicas. *Candida albicans* es la especie más aislada con mayor frecuencia a partir de muestras clínicas y generalmente representa entre un 90% y un 100% de las cepas aisladas de muestras de mucosas, y entre un 50% y 70% de las cepas procedentes de pacientes con infecciones nosocomiales septicémicas. Alrededor de un 95% de éstas últimas corresponde a cuatro especies: *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis*. De ellas, *C. glabrata* es la única que se considera <<emergente>> como causa de infecciones nosocomiales septicémicas, debido, en parte, a su resistencia intrínseca y adquirida a los azoles y otros antifúngicos empleados de forma frecuente. (Arenas, 2011) (Villanueva, 2007)

1. **Candidosis oral aguda**
   - Pseudomembranosa. Es la variedad clínica más común se presenta en lengua, pero puede afectar también encías, paladar o invadir toda la boca. Su morfología típica es de placas pseudomembranosas, cremosas y blanquecinas, con fondo eritematoso, que simulan restos de leche o crema.
   - Atrófica aguda. Se presenta más en paladar y es propia de pacientes bajo antibioticoterapia prolongada.
2. **Candidosis oral crónica**
   - Hiperplásica o "lengua vellosa". Se manifiesta en los bordes de la lengua y en la mucosa yugal, llegando a ser indistinguible de la de origen viral, pueden presentarse fisuras y úlceras dolorosas.

- Queilitis angular. La candidosis oral se puede extender a los labios, está constituido por placas eritemato-escamosas y erosionadas, en pacientes aprensivos con escasa dentadura, que tiene la costumbre de chuparse los labios. A partir del foco bucal la candidosis puede continuar hacia faringe, laringe, esófago, tráquea, etc., lo cual es frecuente en pacientes con leucemia, linfomas y VIH-SIDA.
- Crónica atrófica o estomatitis sub-placa. Se presenta en una sola placa adherida, habitualmente eritematosa, en pacientes con prótesis mal adaptadas. (Villanueva, 2007)

MORFOLOGÍA Y HÁBITAT DE LAS ESPECIES DE *Candida*

Todas las especies del género *Candida* se desarrollan como células levaduriformes ovaladas (3 a 5 µm) que forman blastoconidias. Con excepción de *C. glabrata*, las especies de *Candida* producen pseudohifas e hifas verdaderas. Por otra parte, *C. albicans* genera tubos germinales de pared gruesa. (Bonifaz, 2010)

Candida albicans es dimórfica; además de las levaduras y las pseudohifas, también puede producir hifas verdaderas. Sobre medio de agar harina de maíz, o en las primeras 24 horas a 37°C o a temperatura ambiente, las especies de *Candida* producen colonias blandas de color cremoso con olor a levadura. Las pseudohifas se manifiestan con crecimiento bajo la superficie del agar. (Bonifaz, 2010)

HÁBITAT Y FUENTE DE INFECCIÓN DE *Candida*

La mayoría de las especies de *Candida* habitan el ser humano y algunos animales, sin embargo, no se aísla de suelos ni de *detritus* vegetal; los pocos casos de aislamiento se deben a la contaminación por materia fecal en el suelo.

Son componente de la flora normal del cuerpo; se presenta en los primeros días del nacimiento y tiene gran predilección por las mucosas. Se localizan en el tracto gastrointestinal y tracto respiratorio superior (boca, laringe y faringe); suele aumentar en estos sitios debido a múltiples factores, por ejemplo, la falta de aseo bucal.

Condiciones para el oportunismo de *Candida:* (Bonifaz, 2010)

- Soportar temperaturas de 37°C.
- Realizar un cambio bioquímico en el organismo.
- La capacidad del hongo para adaptarse al organismo.
- Condiciones de predisposición del hospedero
- Enfermedades o procesos debilitantes en el hospedero.
- Inmunodeficiencias adquiridas.

- Efectos causantes de tratamiento con antibióticos de amplio espectro.
- Trasplantes de órganos.
- Cateterismo y nutrición parental.

FACTORES DE VIRULENCIA

Para que *Candida* cause una enfermedad requiere forzosamente de factores de virulencia (Cuadro 1), la mayor parte de veces esta se origina de forma endógena, casi siempre es atribuible a dos procesos: desequilibrio de la flora microbiana y debido a enfermedades o procesos que influyan en la respuesta inmune sobre todo a nivel celular, por ejemplo, una disminución en el número de leucocitos polimorfonucleares.

Cuadro 1

Factores de virulencia de las especies de *Candida*

	Factores moleculares
Adherencia	Hidrolasas extracelulares (proteinasas, lipasas)
Dimorfismo	Aflatoxinas (toxinas asesinas, nitrosaminasas, metabolitos ácidos)
Tubos germinativos	
Mutación	
Interferencia con: fagocitos, defensa inmune, complemento	
Sinergismo con bacterias	

Adaptación al pH. La propiedad que tiene *Candida* para adaptarse a los cambios de pH se debe a dos genes (*PHR1* y *PHR2*); ambos se activan o inactivan en diferentes condiciones; *PHR1* se activa en pH neutro o ligeramente básico (cuando está en sangre o piel alcalinizada) y se inactiva en medio ácido, activándose *PHR2* (por ejemplo, en vagina).

El gen *PHR1* codifica para una glucoproteína de superficie anclada en la membrana de *Candida albicans* por el glucosilfosfatidilinositol y ésta se expresa fuertemente cuando el pH del medio de crecimiento es mayor de 5.5. El gen *PHR2* es un gen homólogo del gen *PHR1*, se expresa de forma complementaria al pH de 4.0 pero no al pH mayor de 6.0. Estos dos genes están implicados en la morfogénesis *in vitro* de *C. albicans.*

Adhesinas. Las importantes son las manoproteínas, las mananas y, por parte de las células receptoras o, las manoproteínas de superficie tipo lectina.

El gen *ALS* codifica glucoproteínas grandes de la superficie y están relacionadas con el proceso de adhesión a las células huésped. El gen *HWP1* codifica una manoproteina de la superficie externa que se cree se orienta por su dominio amino terminal expuesto hacia afuera. El carboxilo terminal se integra de manera covalente con el β-glucano de la pared. La manoproteína sirve como sustrato de las transglutaminasas y, por lo tanto, la unión de la hifa de *C. albicans* a las células epiteliales de la boca.

El gen *INT1* codifica a una proteína similar a integrina, cuyos ligandos son la laminina, colágeno tipo I y IV, fibronectina del hospedero.

Enzimas. Las enzimas más importantes son: queratinasas, peptidasas, hemolisinas, proteasas y hialuronidasas. En forma específica aspartilproteinasa secretora, fosfolipasas y lipasas.

Transición morfológica. Las levaduras tienen la capacidad de cambiar morfológicamente de blastoconidios a seudohifas e hifa. Este cambio se ve estimulado debido a las condiciones ambientales, es uno de los factores de virulencia más significativos que presentan las levaduras. Todas las especies de *Candida* se comportan como hongos dimórficos; sus formas filamentosas y seudofilamentosas son las causantes de infección, a excepción de *C. glabrata*, que no sufre cambios morfológicos.

Switching fenotípico. Tienen la capacidad de hacer cambios fenotípicos, como la macromorfología colonial, el aumento o la disminución en la producción de enzimas y toxinas. Se da de manera estratégica frente a las células que ataca.

Formación de *biofilms*. Es un cúmulo de microorganismos adheridos a una superficie unida por sustancias poliméricas secretadas por ellos mismos. Esto le da una gran capacidad de resistencia a los antimicóticos. *C. albicans y C. parapsilosis* son las dos especies con mayor capacidad de formar estas películas. Se presenta con mayor frecuencia en mucosa oral, vagina e incluso catéteres. Los biofilms formados por *C. albicans* están compuestos por una capa de células en forma de levadura que se adhieren a la superficie en la parte de arriba. Esta capa la forman las células filamentosas en forma de hifa, rodeadas por una matriz extensiva exopolimérica. El material extracelular producido por *C. albicans* en la biopelícula contiene carbohidratos, proteínas y otros compuestos y difiere en la composición del material extracelular producido por las células planctónicas. (Bonifaz, 2010)

IDENTIFICACIÓN DE *Candida albicans*

Las diversas especies de *Candida* crecen en la mayor parte de los medios de cultivos habituales, como son: agar Sabouraud, agar sangre de carnero, infusión cerebro corazón y extracto de levadura. Es importante saber que *C. albicans* y *C. dubliniensis* crecen en los medios de Sabouraud mas antibióticos, sin embargo, algunas otras especies son inhibidas por la cicloheximida (*C. tropicalis, C. parapsilosis, C. krusei y C. zeylanoides)*; se recomienda hacer las siembras a la par en medios Sabouraud y extracto de levadura.

Las características de las colonias en la mayor parte de medios son similares, crecen en 2 a 3 días a 28 o 37°C, dando colonias blanquecinas, lisas (en ocasiones rugosas), húmedas, limitadas, opacas y en algún momento se observan seudomicelio y micelio en el agar.

Hay medios selectivos para el género *Candida,* como el Biggy, que contiene gran cantidad de citratos que eliminan la flora bacteriana, así como sulfitos que son reducidos a sulfuros, de esta manera las colonias se ven de color café claro u oscuro, lo que las hace distinguibles de otros hongos levaduriformes y se considera un excelente medio de primo-aislamiento, por lo que es útil para el trabajo rutinario.

Han surgido medios de cultivo cromogénicos que permiten hacer una identificación en los primeros aislamientos, por ejemplo, el medio pionero de CHROMagar-*Candida*, el medio está hecho a base de sales cromógenas y enzimas, que permiten el desarrollo de las especies de *Candida* y otros hongos levaduriformes. (Arenas, 2011) (Bonifaz, 2010)

DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO

Dos patrones de crecimiento en el agar harina de maíz son útiles para la identificación de *Candida albicans*: 1) la producción de clamidosporas, 2) blastoconidos que se disponen en los racimos densos distribuidos de modo uniforme a lo largo de las pseudohifas o ambos. (Koneman, 2008)

Dos pruebas morfológicas simples diferencian a *Candida albicans*: 1) Después de la incubación en suero durante 2 horas a 37°C las células de *C. albicans* empiezan a formar verdaderas hifas o tubos germinales y 2) en un medio nutricionalmente insuficiente *C. albicans* produce clamidosporas grandes y esféricas. (Madigan, 2009) (Romero, 2007)

Al microscopio se observan grandes cúmulos de blastoconidios de aproximadamente 2 a 4 µm de diámetro y seudohifas cortas o largas e hifas, éstas determinan el estado patógeno y virulento de la levadura y confirman el diagnóstico.

Streptococcus pyogenes

Los estreptococos son anaerobios facultativos; en realidad, algunas cepas se desarrollan mejor en condiciones de anaerobiosis, son oxidasa negativos. En cultivo en medios líquidos se presentan en cadenas. Algunos estreptococos producen beta-hemólisis como es el caso de *Streptococcus pyogenes* del grupo A y *Streptococcus agalactiae* del grupo B. (Figura 5)

El hombre es el único huésped conocido en el caso de faringitis, la transmisión es por secreciones respiratorias o por saliva y se requiere contacto estrecho. Puede presentarse a cualquier edad, pero es más frecuente en escolares, el contagio es mayor durante la etapa aguda (primeras dos semanas), el periodo de incubación es de 2 a 5 días. La portación faríngea en la población general es de 15 a 30% en pacientes con infección.

S. pyogenes es el principal agente bacteriano de faringitis. Otros estreptococos beta-hemolíticos causantes de faringitis son los de los grupos C, G y F de Lancefield. Otras bacterias que causan faringitis con menor frecuencia: *Arcanobacterium hemolyticus*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Corynebacterium ulcerans*, *Micoplasma pneumoniae*.

Figura 5. Cultivo en agar sangre donde se observan los diferentes tipos de hemólisis.

Factores de virulencia

Algunos de los factores de virulencia de *Streptococcus pyogenes* son los que se describen a continuación y se incluyen en el Cuadro 2

Cápsula

En la estructura de la bacteria destacan la presencia de una cápsula de ácido hialurónico, producida por la mayoría de las células, es de gran importancia ya que es imposible diferenciarla a nivel antigénico del ácido hialurónico presente en el tejido conjuntivo del huésped de manera comparable con una capa de invisibilidad. (Ryan, 2004)

Proteína M

Es una proteína que se usa para serotipar a las cepas de *S. pyogenes* también ésta asociada a una mayor virulencia; se compone de dos cadenas polipeptídicas que forman un α-hélice. La proteína M es la más importante debido a que en ella se encuentra la especificidad de serotipo; protege a la bacteria de la fagocitosis al unirse al factor H (proteína reguladora del complemento y fibrinógeno) y favorece la degradación del complemento C3b. (Tortora, 2007)

Toxinas

Estreptolisina O: Es una hemolisina que actúa sobre los eritrocitos humanos y de otras especies. Es cardiotóxica, altamente inmunogénica ya que estimula la producción de anticuerpos específicos y se inactiva fácilmente con el oxígeno. Esta es una de las más implicadas en la fiebre reumática. (Valencia, 2010)

La antiestreptolisina O, bloquea la reacción de hemólisis y, además, causa lisis de los gránulos citoplásmicos de los leucocitos.

Enzimas.

Estreptoquinasa**:** Éste actúa sobre la fibrina degradándola al romper los enlaces entre los aminoácidos, es decir, induce la formación de anticuerpos anti-estreptoquinasa, trasformando el plasminógeno en plasmina evitando la coagulación.

Estreptodornasa: Es una ADNasa que despolimeriza el ADN e induce la formación de anticuerpos. (Valencia, 2010)

Desoxirribonucleasas: Son enzimas que actúan sobre el ácido desoxirribonucleico, que cuando se acumula en las secreciones purulentas, produce un material muy viscoso que atrapa a las bacterias.

Hialuronidasa: Es una enzima que actúa sobre el ácido hialurónico, que es el cemento que une a las células de los tejidos, lo que permite que la bacteria pueda difundirse a otras áreas. Es un factor de difusión o diseminación a los tejidos adyacentes.

Leucocidina: Tiene una acción muy selectiva en el metabolismo de los leucocitos.

Proteinasa: Enzima que actúa muy específicamente sobre grupos selectos de proteínas.

Exotoxinas pirógenas: se asocia con el síndrome de choque tóxico, faringitis, escarlatina e infecciones de la piel y tejidos blandos.

Estreptolisina S: Es la enzima responsable por la zona de hemólisis β sobre el agar sangre. No es antigénica, es estable en presencia de aire y se produce en presencia de suero. Se considera que puede tener una acción leucotóxica. (Rubistein et al, 2005)

Cuadro 2: Factores de virulencia de *Streptococcus pyogenes*

Adhesión

- Cápsula
- Ácido lipoteicóico
- Proteína fijadora de IgG
- Proteína M

Toxicidad

- Estreptolisina O
- Toxina Eritrogénica
- Toxina piogénica

Enzimática

- Estreptocinasa
- Hialuronidasa
- Nucleasa
- Peptidasa
- Desoxirribonucleasas
- Estreptodornasa

IDENTIFICACIÓN DE *Streptococcus pyogenes*

- En el frotis con tinción de gram y cultivados en caldos se presentan como cocos Grampositivos en cadena
- Son catalasa negativo
- Son sensibles a bacitracina 0.04 U y resistentes a Trimetoprim/sulfametoxazol 1.25 µg/23.75 µg.
- Positivo a la prueba de PYR (pirrolidonil arilamidasa)
- Negativo a la prueba de Vogues-Proskauer. (Koneman, 2008)

Moraxella catarrhalis

Es un diplococo Gramnegativo, aerobio, oxidasa positiva, el foco primario de colonización es el tracto respiratorio humano, aunque, ocasionalmente, se han asilado de tracto genital. Los porcentajes de colonización son variables y dependen

de diferentes factores como la edad, el estado de salud, factores socio-económicos, localización geográfica o variación estacional. (Morse, 2005)

El porcentaje de portadores es muy elevado en la infancia, causando patología muy variada. En los niños, la colonización nasofaríngea frecuentemente precede al desarrollo de la enfermedad por *M. catarrhalis.* Es causante de otitis media y sinusitis. *M. catarrhalis* ha emergido como un importante patógeno del tracto respiratorio superior de niños y ancianos, e infecciones del tracto respiratorio inferior en adultos con enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC). El 90% de las cepas son productoras de β-lactamasas, se ha descrito que es exclusiva de humanos y coloniza sin ser capaz de producir infección. Se ha demostrado que la colonización por esta bacteria se establece en edades muy tempranas y va disminuyendo al crecer. (Madigan, 2009)

La identificación de *M. catarrhalis* a partir de muestras clínicas puede realizarse por su aspecto en la tinción Gram, sus características de crecimiento y por pruebas bioquímicas.

En tinción Gram de una muestra aparecen como diplococos Gramnegativos, crece en 24-48 horas en medios como agar sangre y agar chocolate, forman colonias redondas, opacas y convexas, de color gris. Se utilizan los siguientes criterios para su identificación:

- Ausencia de pigmentación en agar sangre (no hemolítica)
- Producción de oxidasa y catalasa
- Producción de DNAsa
- Ausencia de producción de ácido a partir de glucosa, maltosa, sacarosa y fructosa.
- Reduce los nitratos a nitritos. (Llop, 2001)

ENTEROBACTERIAS

La importancia de las enterobacterias en patología oral es escasa. (Mariazza, 2013)

Los agentes bacterianos como *Klebsiella* sp y *Escherichia coli* son bacilos entéricos y solo están presentes en faringe por malos hábitos higiénicos, por comida y bebidas contaminadas por lo que no son de importancia en personas sanas.

Los bacilos Gramnegativos pertenecientes a la familia *Enterobacteriaceae* son los aislamientos bacterianos con más frecuencia en muestras clínicas. Están distribuidos en la naturaleza en forma amplia, estos microorganismos se encuentran en aguas, suelos, sobre las plantas y en el tracto gastrointestinal de humanos y

animales. Los pacientes inmunocomprometidos o debilitados son altamente susceptibles a las infecciones adquiridas en los hospitales. (Alvarez, 2009)

Escherichia coli

E. coli se le considera oportunista y se observa en pacientes debilitados (diabetes, alcoholismo, EPOC) o inmunodeprimidos, a menudo durante su estancia en el hospital. Clínicamente produce una bronconeumonía de lóbulos inferiores, acompañada frecuentemente de empiema y bacteriemia. Tiene una mortalidad superior al 50% debido a la gravedad de las enfermedades de base. (Forbes, 2009)

Klebsiella spp

Las especies de *Klebsiella* están ampliamente distribuidas en la naturaleza y en el tracto gastrointestinal de los seres humanos y animales. Todas las especies de *Klebsiella* son inmóviles y la mayoría no descarboxila la ornitina. La producción de indol separa a dos especies principales: *K. pneumoniae* es indol negativo y *K. oxytoca* es indol positivo. (Forbes, 2009)

K. pneumoniae se recupera con más frecuencia de muestras clínicas y puede causar una forma clásica de neumonía primaria. No es frecuente encontrar esta bacteria en orofaringe de personas normales (1 a 6% de tasa de portadores). Sin embargo, puede haber una alta prevalencia en pacientes intrahospitalarios. Esta colonización puede ser la fuente de infecciones pulmonares en pacientes en condiciones debilitantes como el alcoholismo, diabetes y la enfermedad pulmonar obstructiva. *K. rhinoscleromatis* causa la enfermedad granulomatosa rinoscleroma, una infección de la mucosa respiratoria, orofaringe, la nariz y senos paranasales. (Morse, 2005) (Patrick, 2009)

Enterobacter spp

E. aerogenes y *E. cloacae* son las especies más encontradas en muestras clínicas. Son parte de la flora normal entérica, se asocian con una variedad de infecciones oportunistas que afectan las vías urinarias y el tracto respiratorio, las heridas cutáneas y, en ocasiones, causan septicemia y meningitis.

IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS

En un frotis de colonias con tinción Gram, se presentan células bacilares o cocobacilos Gramnegativos, cuyo tamaño varía de 0.5 a 2 µm de ancho y de 2 a 4 µm de largo.

Producen colonias mucoides o secas relativamente grandes, de color gris opaco, en agar sangre esto último sugiere cepas de *Klebsiella pneumoniae.* Las colonias

aparecen rojas en agar MacConkey o tienen brillo metálico sobre agar EMB, lo cual indica que son capaces de formar ácido a partir de lactosa presente en el medio. (Koneman, 2008) (Patrick, 2009)

La diferenciación de la familia *Enterobacteriaceae* se basan primariamente en la presencia o ausencia de enzimas que dirigen el metabolismo de las bacterias. Con unas pocas excepciones, todos los miembros de *Enterobacteriaceae* demuestran las siguientes características: (Prescott, 2002)

- Fermentadoras
- Citocromo oxidasa negativo
- Reducen nitratos a nitritos
- Movilidad
- Descarboxilación de lisina y ornitina

Staphylococcus aureus

Es el patógeno humano más importante de los estafilococos. Se localiza en el ambiente externo y en las narinas anteriores del 20% a 40% de los adultos. Aunque forma parte de la microflora humana normal, puede producir infecciones oportunistas importantes en las condiciones apropiadas. La bronconeumonía estafilocócica adquirida en la comunidad se observa habitualmente en ancianos y se asocia con una neumonía viral como factor predisponente. La neumonía producida por *S. aureus* se observa en cuadros clínicos de enfermedad pulmonar obstructiva crónica, con intubación y aspiración. (Núñez 2007) (Prescott, 2002)

El aislamiento de *S. aureus* en faringe no tiene importancia clínica ya que es considerado microbiota normal del mismo, por lo que no tiene significado clínico en personas sanas (Morse, 2005). Existen evidencias de que el estado de portador de *S. aureus* propicia una evolución desfavorable de la enfermedad alérgica, debido al incremento de la liberación de histamina antígeno-específica, importante mediador de la respuesta alérgica inmediata. Además, muchas cepas de *S. aureus* producen superantígenos, sustancias capaces de alterar la respuesta inmunomoduladora y ocasionar un efecto proinflamatorio. (Núñez 2007) (Fuentes et al, 2008)

INDENTIFICACIÓN

La característica más confiable para la identificación de *Staphylococcus aureus* es la prueba de coagulasa tiende a formar un coágulo en plasma con EDTA en un tubo a 35°C durante 4 horas o a temperatura ambiente durante 18 horas.

La prueba de DNAsa: Es una prueba que consiste en observar la actividad desoxirribonucleasa que presentan algunos microorganismos. *S. aureus* produce una DNAsa y una endonucleasa termostable.

El medio utilizado es el agar sal y manitol ya que inhibe el desarrollo de otros microorganismos debido a la alta concentración de sales y recupera selectivamente a estafilococos. El crecimiento en sal y manitol es importante para *S. aureus* ya que puede ser detectado por la presencia de un halo amarillo alrededor de las colonias aisladas, lo que permite diferenciarlo de otros estafilococos. *S. saprophyticus* es manitol variable. (Núñez 2007)

MARCO DE REFERENCIA

En un estudio propuesto por Rueda Gordillo F. en el año de 2008, se realizaron exudados faríngeos a 151 personas con cáncer, en el cual se reportó que del total de la población muestreada el 59% presentó *Candida,* identificándose como *C. albicans* el 50% y el otro 9% alguna otra especie de *Candida*. El 42% presentó *C. albicans* en cultivo puro y el 8% presentó un cultivo mixto. Al ser pacientes con cáncer poseen factores que aumentan el riesgo de adquirir infecciones causadas por microorganismos oportunistas pues son pacientes con sus defensas debilitadas, bajo tratamiento antineoplásico, cirugías extensas, con catéteres intravasculares de larga estancia y otros dispositivos que rompen las barreras naturales. (Rueda et al, 2008)

En este estudio realizado por Gaitan Cepeda L. A y col. en el año del 2012, en el cual se demostró la presencia de *C. albicans* en pacientes con VIH-SIDA y desnutrición, obteniendo lo siguiente: 52% de niños con VIH/SIDA bajo terapia antirretroviral altamente activa (TAAA), 38% de niños en desnutrición, 17% en niños de la región tarahumara y un 10% en el grupo control. Se concluyó que *C. albicans* está presente en mayor frecuencia en pacientes con inmunodeficiencias que aquellos con problemas de nutrición o aquellos que pertenecen a un grupo étnico en marginación. (Gaitan et al, 2012)

Giannelli y col. en el 2007 realizaron la prueba de bacterioscopía de exudado faríngeo, pruebas de bacitracina y de PYR a 108 niños, obteniendo los siguientes resultados: el 13% de los cultivos resultaron positivos para *S. pyogenes*, distribuidos de forma similar entre ambos sexos; los niños de 8-10 años presentaron el mayor porcentaje de portación asintomática de *S. pyogenes*. (Giannelli y Posse, 2007)

Farías y col. en el 2003 identificaron bacterias asociadas a faringoamigdalitis en una población de 654 muestras de exudado faríngeo en niños, todas ellas provenían de niños con diagnóstico de faringoamigdalitis bacteriana. Una vez identificados los microorganismos se probó su susceptibilidad. El patógeno aislado con mayor frecuencia fue EBHGA *(S. pyogenes)* en un 12% y una sensibilidad *in vitro* para la ampicilina del 100%. Este estudio confirma que EBHGA *(S. pyogenes)* sigue siendo el agente bacteriano más común en faringoamigdalitis y no presentó resistencia a la penicilina y sus derivados, presento resistencia a macrólidos como eritromicina y azitromicina. (Farias et al, 2003)

Valencia Cruz y col. en el 2010 identificaron en una población de 100 muestras de exudados faríngeos, 14 aislamientos de *S. pyogenes,* todas las muestras provenían de pacientes con diagnóstico clínico de faringoamigdalitis. El patógeno más aislado fue *M. catarrhalis,* seguido de *S. aureus* y *S. pyogenes* en los meses de julio a

diciembre. También se obtuvieron 4 casos de enterobacterias de los que predominaba *K. pneumoniae.* (Valencia et al, 2010)

En otro estudio realizado por Mariazza Rodriguez y col. en el año 2013, se demostró que 12 de los 13 participantes (92%) presentaron colonias presuntivas de *S. aureus,* a las cuales se les realizaron pruebas de DNAsa- coagulasa obteniendo como resultados: negativos para estas dos pruebas en 46% de los participantes y otro 46% estaba colonizado de *S. aureus*. También se demostró la presencia de *K. pneumoniae* y *E. aerogenes* en porcentajes muy bajos en comparación a los de estafilococos. Cabe destacar que solo un participante estaba colonizado por *S. aureus* y *E. aerogenes.* (Mariazza y Carrillo, 2013)

White Mediaceja V.L. y col. en el año 2011 demostró que, en una población de 112 personas, un total de 36 eran portadores de bacterias posiblemente patógenas (BPP) de las cuales predominó: *S. aureus* (10,8%) y *S. pneumoniae* (8,9%), seguido por Estreptococo β-hemolítico y *N. meningitidis*, con igual número de aislamientos (8%). También se identificaron algunas enterobacterias en menor cantidad, por ejemplo, *Klebsiella* spp*.* Se encontraron 8 asociaciones de BPP, de las cuales las más frecuentes fueron: *N. meningitidis* junto con *S. aureus* y *S. aureus* con estreptococo β-hemolítico. Se observó que la edad y el sexo mostraron diferencias significativas respecto a los portadores de *N. meningitidis.* (White et al, 2012)

Álvarez J.P. y col. en el año de 2009 realizaron un trabajo en el que se estudiaron exudados faríngeos de 232 niños de entre 2 a 6 años de edad y en el que obtuvieron que 19.8% de estos niños presentaron *S. aureus* seguidos por *K. pneumoniae* (9.5%) y *S. pneumoniae* (6%), se aislaron en un porcentaje del 0.45% una especie de *Neisseria* denominada *sicca* que es considerado como parte de microbiota normal. Se demostró la prevalencia de *S.aureus* y de *K. pneumoniae* en los niños de edad preescolar. (Álvarez et al 2009)

Jaimes Aveldañez A. y col. en el año 2008, realizaron un trabajo en el que se estudiaron exudados faríngeos de 35 personas de edad variable, utilizando CHROMagar para la identificación de las especies de *Candida* y en el que se obtuvieron los siguientes resultados: 18 pacientes presentaron *Candida,* de los cuales 8 pacientes presentaron *C.albicans,* 4 pacientes *C.tropicalis,* 3 pacientes *C. krusei,* 2 pacientes *C. glabrata* y 1 paciente presento *Candida* spp. (Jaimes et al, 2008)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las IVRA pueden ser responsables del ausentismo escolar o inasistencias laborales sobretodo en el periodo invernal. Dichas infecciones pueden presentarse con mayor frecuencia en pacientes con desnutrición, con alguna inmunosupresión e incluso personas con antibióticoterapia extensa provocando una disminución en la microbiota de la faringe. Los principales agentes etiológicos de las IVRA son los virus, provocando el 80% de dichas infecciones, y en un 15% son originadas por agentes bacterianos como *S. pyogenes* y el 5% lo causan los agentes fúngicos como *C. albicans*.

¿Cuál es la frecuencia en que *Candida albicans* y otros microorganismos se encuentran presentes en faringe en la población de la comunidad de Honey?

JUSTIFICACIÓN

Los hábitos de los pobladores de la comunidad de Honey los hace propensos a sufrir dichas infecciones. Existen microorganismos en la faringe que se encuentran como microbiota normal, pero en ciertas condiciones pueden comportarse como oportunistas, agravando el problema de las vías respiratorias. El detectar a tiempo estos microorganismos de alguna manera podemos ayudar a los pobladores a evitar dichas infecciones y así disminuir la tasa de morbilidad y mortalidad.

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la frecuencia de *C. albicans* y otros microorganismos en faringe de habitantes de la comunidad de Honey, municipio de Huauchinango, Puebla.

OBJETIVOS PARTICULARES

- Aislar e identificar a *C. albicans* a partir de muestras de exudado faríngeo.
- Aislar e identificar bacterias de interés médico a partir de muestras de exudado faríngeo.

DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El tipo de la presente investigación es de tipo observacional, transversal y prospectivo.

TAMAÑO DE MUESTRA, SEDE Y LUGAR DE ESTUDIO.

La muestra para el estudio estuvo constituida por 100 exudados faríngeos del municipio, la toma de muestra se realizó en la presidencia municipal de la comunidad Honey, Puebla.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

Niños, jóvenes y adultos que lleguen con las siguientes indicaciones:

- No asearse la boca ni lavarse los dientes antes de la toma de muestra
- Presentarse en ayuno total.

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Aquellos niños que no tengan firmado la autorización de sus padres.

METODOLOGÍA

Para la realización del exudado faríngeo:

1. Dos hisopos estériles se frotan cuidadosamente entre los pilares tonsilares y debajo de la úvula, con la precaución de no tocar las paredes laterales de la cavidad bucal o de la lengua.
2. Rápidamente los hisopos se colocaron en el medio de transporte Stuart y en el medio de enriquecimiento Estreptocel.
3. El hisopo que se encuentra en el medio Stuart se sembró en los siguientes medios de cultivo

   3.1 Se sembró en agar sangre de carnero al 5% (incubado a 35°C en ambiente de microaerofilia (5-10% de CO_2) durante 24 a 48 horas).

   3.2 Se sembró en agar sal y manitol, agar MacConkey y Agar Biggy los cuales se incubarán a 35°C durante 24 a 48 horas.
4. El otro hisopo que se encuentra en el caldo estreptocel es incubado durante 2 horas y posteriormente se sembró en agar sangre de carnero al 5% incubada a 35°C en ambiente de microaerofilia (5-10% de CO_2) durante 24 a 48 horas.
5. A las 24 horas se buscaron colonias β-hemolíticas sospechosas y se volvieron a cultivar en ASC

   4.1) Las colonias sospechosas β-hemolíticas se les realizó tinción gram, prueba de catalasa, sensibilidad a bacitracina, para demostrar si hay o no presencia de *S. pyogenes*.
6. En el agar MacConkey se buscaron colonias lactosa positiva o lactosa negativa.

   5.1) A las colonias lactosa positiva y negativas en el agar MacConkey se les realizó tinción gram, prueba de oxidasa, pruebas bioquímicas (TSI, LIA, MIO, citrato, urea).
7. En el medio Sal y Manitol se buscaron colonias manitol positivo y se les realizó las pruebas para demostrar la presencia de *S. aureus*

   6.1) A las colonias que sean manitol positivo se les realizó: tinción gram, prueba de DNAasa, catalasa y coagulasa para demostrar la presencia de *S. aureus.*
8. Colonias con crecimiento en Biggy

   7.1) A las 48 horas de incubación, se seleccionaron las colonias café oscuro la cual es una característica presuntiva de *C. albicans* (debido a la capacidad de reducir los sulfitos a sulfuros)

   7.2) Se realizó la prueba de filamentación

   7.2.1) La prueba se realizó tomando de una a dos colonias.

   7.2.2) Se hizo una suspensión en 0.5 mL de suero humano, se incubó a 37°C durante 2 horas.

7.2.3 Se tomó una asada de la suspensión y se colocó en un portaobjetos y se observó al microscopio para ver la presencia de tubos germinativos que salen de las blastosporas.

7.3) Se sembró en CHROMagar

7.3.1) Se incubó a 37°C durante 24 a 48 horas, se observó un crecimiento de colonias verde claro, demostrando la presencia de *C. albicans.*

MATERIAL

- Asas bacteriológicas
- Placas Petri de 100 x 15 mm
- Placas Petri de 60 x 15 mm
- Portaobjetos
- Cubreobjetos
- Tinción Gram
- Abatelenguas e hisopos estériles
- Tubos de ensayo de 12 x 75 mm
- Tubos de ensayo de 13 x 100 mm
- Vial de sangre de carnero.
- Suero humano
- Medio de transporte Stuart y caldo estreptocel
- Agar sangre de carnero
- Agar MacConkey
- Agar sal y manitol
- Agar Biggy
- Agar TSI (agar hierro y triple azúcar)
- Agar LIA (Agar Lisina y Hierro)
- Agar citrato
- Agar urea
- Agar MIO (Agar movilidad, Indol y Ornitina)
- Placa de Chromoagar

ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO

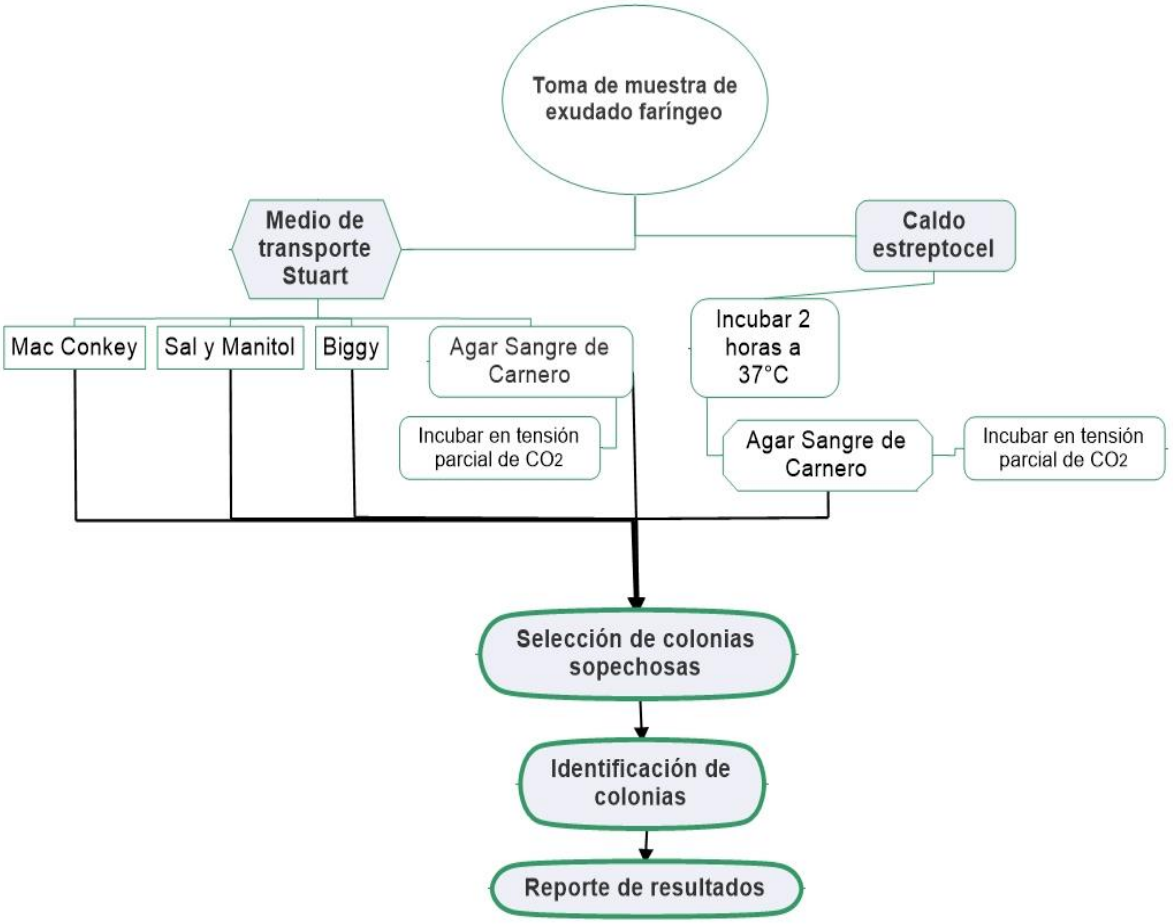


Diagrama 1: Identificación de *C. albicans*

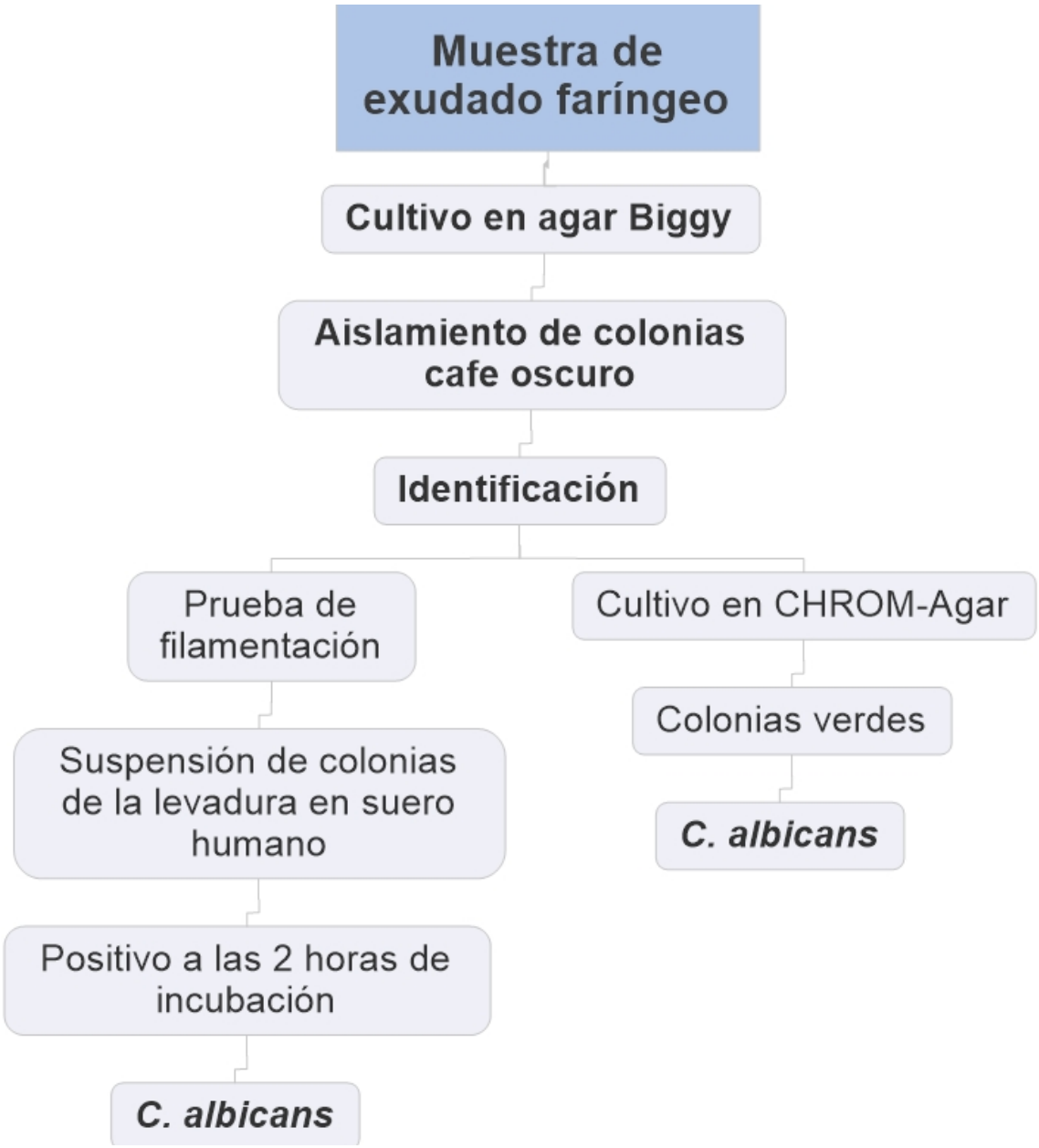


Diagrama 2: Identificación de *S. pyogenes*

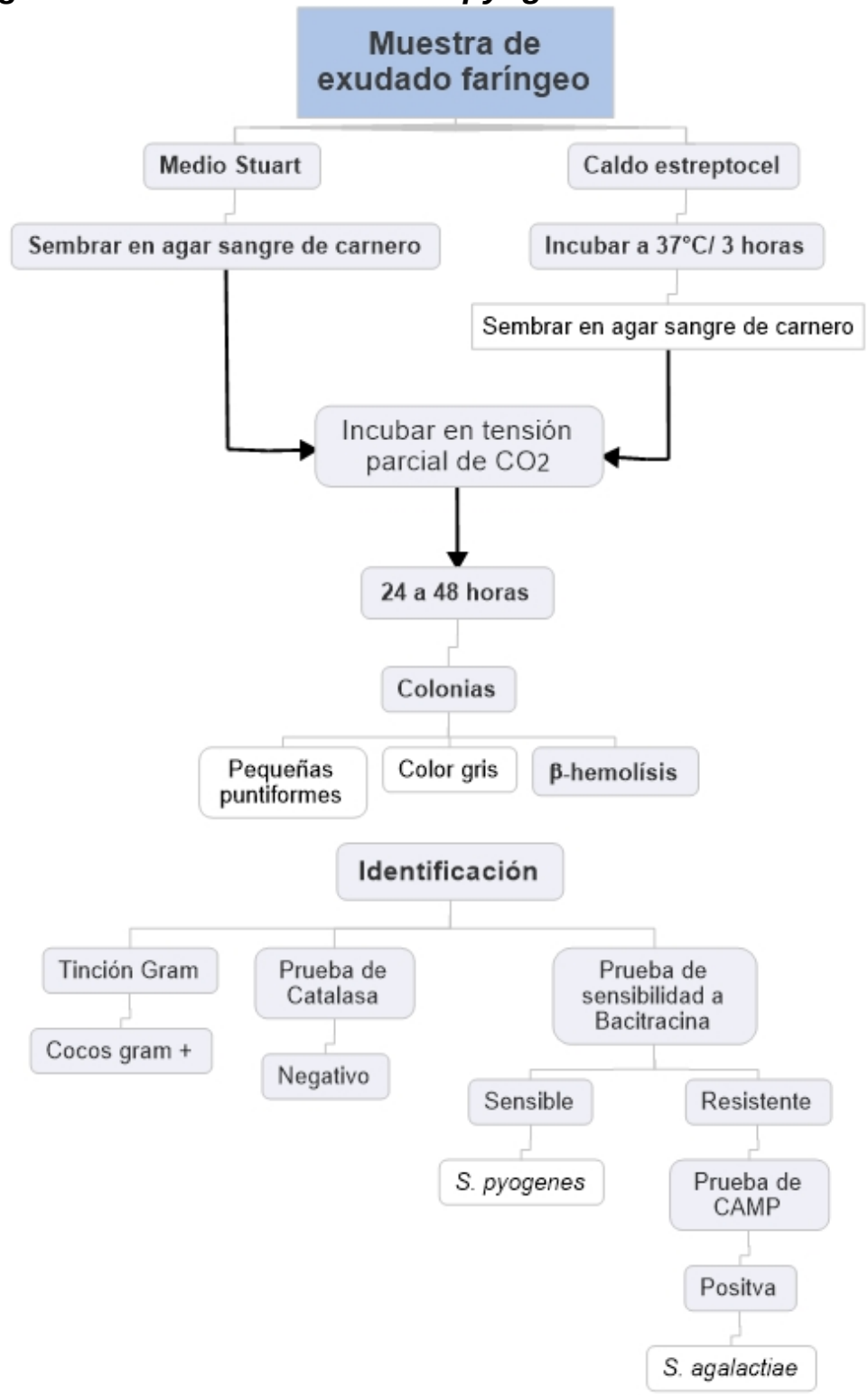


Diagrama 3: Identificación de *S. aureus*

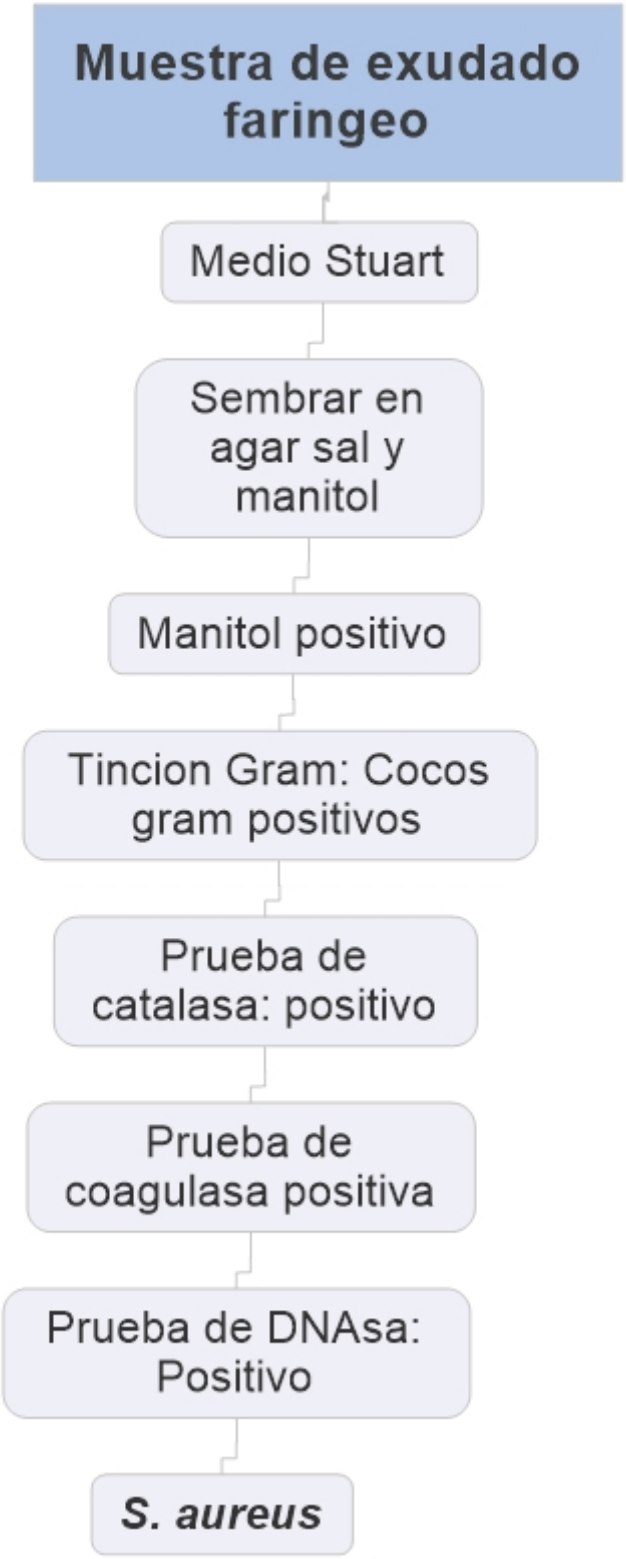
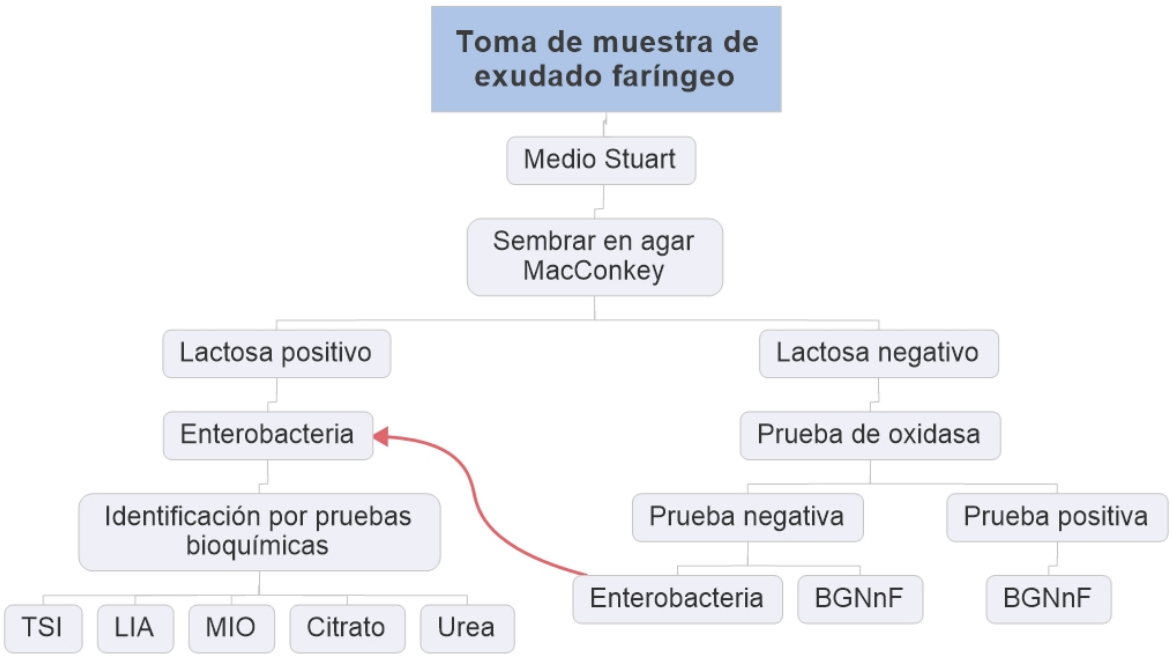


Diagrama 4: Identificación de Enterobacterias



RESULTADOS

Se procesaron un total de 100 muestras de exudado faríngeo de habitantes de la comunidad Honey, en las que se incluyó en el muestreo a niños, adultos y un anciano de dicha comunidad. Se muestrearon en mayor cantidad a mujeres que hombres. (Gráfico 1 y 2)

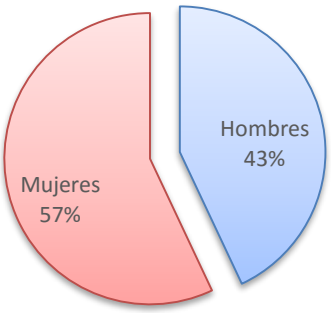


Gráfico 1: Porcentaje de mujeres y hombres de la comunidad de Honey muestreados

Del total de los habitantes que se muestrearon, el 58% corresponde a niños menores de 15 años de los cuales el 32% corresponde a mujeres y el 26% corresponde a hombres. El 42% corresponde a personas de edad adulta de los cuales el 24% corresponde a mujeres y 17% corresponde a hombres y solo el 1% de personas de edad avanzada con 81 años.

Gráfico 2: Porcentaje de niños, adultos y ancianos de la comunidad de Honey muestreados.

La mayoría de las personas que asistieron al muestreo estaban aparentemente sanos, solo un 4% de la población presentaba síntomas de faringitis. Del total de muestras de exudados faríngeos procesados, se lograron aislar 42% de microorganismos oportunistas y ajenos a la microbiota normal como lo muestra el Gráfico 3, cabe mencionar que algunos de los pacientes se encontraron más de un microorganismo oportunista.

La frecuencia de aislamiento de microorganismos de interés para el estudio fue del 42%, de los cuales *Candida albicans* se aisló en un 16%, *Staphylococcus aureus* se aisló con mayor frecuencia en un 19% principalmente en niños y Enterobacterias con 6%, *Moraxella catarrhalis* en 1%, obtuvieron resultados negativos en la búsqueda de *Streptococcus pyogenes.*

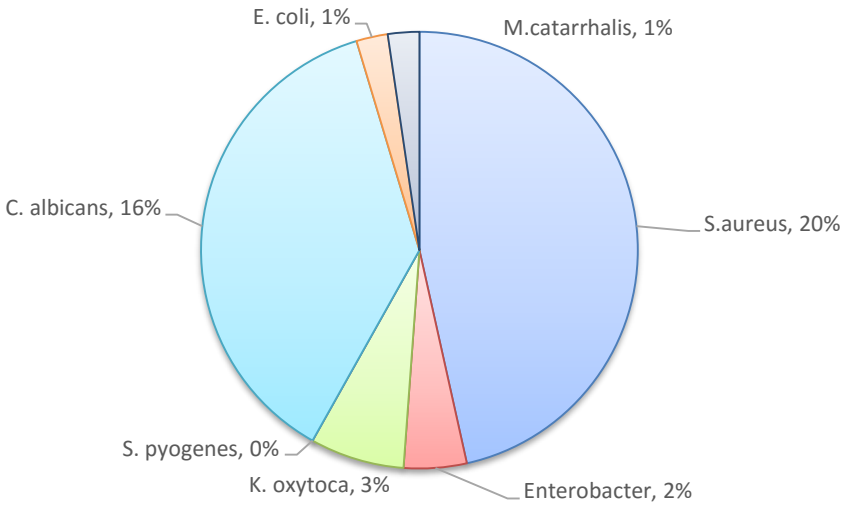


Gráfico 3: Frecuencia de microorganismos aislados en cultivos de exudado faringeo de los habitantes de la comunidad de Honey

En algunos casos se encontraron pacientes que presentaban más de un microorganismo de importancia médica y cómo podemos ver en la Tabla 3, se observan algunas asociaciones en la que predomina la de *S.aureus-C.albicans.* Aunque ambos pertenecen a la microbiota normal de los humanos, se debe tener en cuenta que pueden llegar a causar infección.

Tabla 3: frecuencia de microorganismos y las asociaciones formadas con otros microorganismos

	Frecuencia	Asociados
S.aureus	20	6 asociaciones con *C. albicans* y 1 con *Enterobacter sp.*
Enterobacter sp.	2	1 asociación con *S. aureus* y 1 asociación con *C. albicans*
Klebsiella oxytoca	3	2 Asociaciones con *C. albicans*
C. albicans	16	6 asociaciones con *S. aureus* y 1 con *Enterobacter sp*
E. coli	1	
M.catarrhalis	1	
S. pyogenes	0	
TOTAL de m.o de interes	42	

A los habitantes de la comunidad se les proporcionó una encuesta la cual demostró que una parte de los adultos de la comunidad son consumidores de alcohol (37%) y fumadores (23%) razones que aumenta el riesgo de contraer una enfermedad de tracto respiratorio superior, también una cierta parte de los pobladores consumen alimentos de la calle (Gráfico 4) por lo que posiblemente puedan adquirir alguna enterobacteria por algún alimento contaminado, aunque también existen otras formas por las cuales se puede adquirir una enterobacteria en faringe como por ejemplo, la falta higiene.

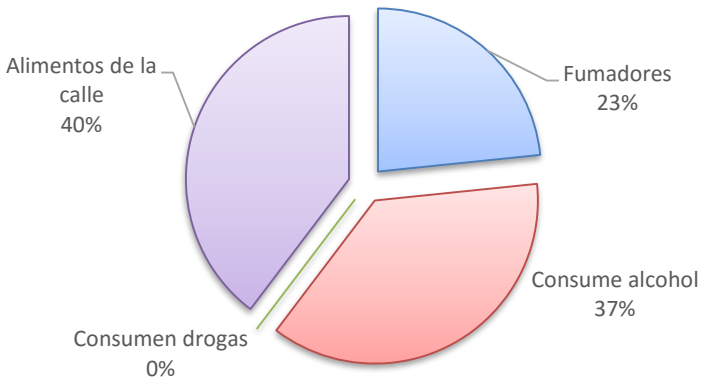


Gráfico 4: Resultados de la encuesta proporcionada

DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Se obtuvieron 100 muestras de exudado faríngeo de la comunidad de Honey, municipio de Huauchinango, Puebla. Se procesaron las muestras, obteniendo datos de suma importancia, ya que las infecciones de la faringe si no son tratadas o se automedican sin la previa consulta médica, pueden llevar a enfermedades más severas.

Candida albicans se aisló en un 16% de los casos, normalmente se encuentra en la cavidad oral, en el tracto gastrointestinal y en la vagina. Llega a causar infección a personas con alguna enfermedad crónica no tratada, personas con inmunosupresión, aquellas que consuman alcohol y cigarros. Se presenta con mayor frecuencia en niños recién nacidos y se puede contraer por canal de parto si la madre presenta candidiasis vaginal. Se ha demostrado en el estudio realizado por Jaimes Aveldañez A. y col. en 2008 se reporta que en adultos la incidencia de *Candida* es del 51.4% y que se presenta con mayor frecuencia en adultos mayores de 63 años, debido quizá al mayor consumo de medicamentos y al uso de prótesis dentales. En este estudio la mayor cantidad de portadores de *Candida* se presentó en adultos menores a los 50 años, debido a que la mayoría de las personas estaban en un rango de edad de 18 a 46 años. En el mismo estudio señala que *C. albicans* es el hongo más frecuente en portadores asintomáticos con un porcentaje de 44.4% de 35 personas muestreadas, en este estudio se presentó que el 16% de las personas muestreadas presentaba *C. albicans*.

S. aureus se presentó en el 20% de las muestras procesadas, resultando ser el microorganismo que con mayor frecuencia se aisló en las personas de esta comunidad, cabe mencionar que si el paciente tiene inmunosupresión este microorganismo puede llegar a causarle neumonía, síndrome de shock tóxico y bacteriemia, por lo que es de suma importancia su aislamiento. Comparando con el estudio realizado por Mariazza Rodriguez y col. en 2013 en el que el 46% de las personas presentaron colonias de *S. aureus* y en el trabajo realizado por White V.L y col. en 2012 en el que predominó *S. aureus* en un 10.8% de los pacientes muestreados. En ambos estudios se llega a la conclusión que los pacientes son portadores asintomáticos en su mayoría de *S. aureus*, como sabemos no es un patógeno causante de faringitis, pero, puede aprovechar las condiciones del huésped para generar infecciones como ya se había mencionado anteriormente.

El hallazgo de Enterobacterias se presentó en un bajo porcentaje, estos microorganismos son oportunistas, como es el caso de *Enterobacter, E. coli y Klebsiella*, ya que se han reportado casos de neumonías secundarias a faringoamigdalitis mal tratadas causadas por este grupo de microorganismos. Las

diferentes formas en cómo se adquieren varían según los hábitos higiénicos y la calidad higienica de los productos alimenticios y bebidas. En el trabajo realizado por Mariazza Rodriguez y col. en 2013 hubo presencia de *K. pneumoniae (7.69%)* y *E. aerogenes* (15.38%). En este estudio se obtuvieron resultados similares ya que la presencia de *Klebsiella* (3%) y *Enterobacter* sp (2%) se presentaron en un porcentaje muy bajo en comparación a *S. aureus.*

En el estudio realizado por Valencia y col. en 2010 el microorganismo que tuvo más prevalencia fue *M. catarrhalis* en un 28% de los pacientes muestreados. En este trabajo solo se tuvo el 1% de aislamientos de *M. catarrhalis,* cabe mencionar que este microorganismo coloniza durante la infancia, sobretodo en menores de 2 años, aunque se ha demostrado que puede estar presente en individuos que han cursado con un proceso respiratorio agudo, también se tiene que tener en claro que esta bacteria es productora de β-lactamasas, por lo que se debe tener presente en caso de que algún tratamiento con β-lactámicos falle.

En los trabajos anteriores se menciona que en muchos casos los pacientes presentaron más de un microorganismo oportunista. Esto se menciona en los trabajos de Mariazza Rodríguez y col. y White Mediaceja V.L y col. los cuales presentaron asociaciones de microorganismos aislados, en el caso del trabajo de Mariazza Rodríguez y col. se obtuvo una asociación de *S. aureus* y *E. aerogenes.* Y en el trabajo realizado por White Mediaceja se encontraron 8 asociaciones de bacterias posiblemente patógenas, de las cuales las más frecuentes fueron: *N. meningitidis* con *S. aureus* y estreptococos β-hemolítico con *S. aureus*. La presencia de *S. aureus* con estreptococos β-hemolíticos se asocia de manera significativa con antecedentes de una enfermedad alérgica.

En los trabajos citados se mencionan las condiciones para que los microorganismos se presenten con mayor frecuencia en faringe, como son el clima frío, las lluvias, consumo de alimentos contaminados, prótesis dentales, malos hábitos higiénicos, consumo de alcohol y cigarros, enfermedades crónico degenerativas y la inmunosupresión, de las cuales en la comunidad se presenta una parte de ellas, aunque, los habitantes de la comunidad de Honey se presentan asintomáticos.

CONCLUSIÓN

- *C. albicans* que se presentó con un 16% en los habitantes principalmente en adultos.

- *S. aureus* se presentó en un 19 % en los habitantes principalmente en niños de edad escolar. Los portadores de *S. aureus* representan un riesgo potencial para la adquisición y desarrollo de infecciones (nosocomiales o adquiridas en la comunidad), y la reducción de este microorganismo puede contribuir a disminución de estos procesos.

- *Klebsiella oxytoca* se presentó en un 3% siendo la enterobacteria más frecuente seguida de *Enterobacter* con 2% y *E.coli* con 1%.

- En la búsqueda de *Streptococcus pyogenes* se obtuvo resultados negativos

- *M. catarrhalis* se aisló en 1% de los habitantes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Aguierre Urizar Jose M., Candidiasis orales, Revista Iberoamericana de Micología, 2002.
2. Alvarez J.P., Roas R. y Maitín M. Prevalencia de bacterias potencialmente patógenas aisladas en exudado faríngeo de prescolares sanos de Barquisimeto. Boletín Médico de Postgrado. Año 2009. Vol XXV.
3. Arenas R., Micología Médica Ilustrada, México D. F. Mc GrawHill/Interamericana, 2011.
4. Bonifaz A. Micología Médica Básica. 4a ed. México D.F.: Ed. McGraw Hill, 2010.
5. Castañon Olivares, L. (2011). Candidiasis. Modificacion el 4 de enero 2016, desde http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/micologia/candidosis.html
6. Edwards JE Jr. Candida species. In: Bennett JE, Dolin R, Blaser MJ, eds. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. 8th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders; 2015: chap 258. Desde https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000626.htm
7. Elaboración propia con base en Estadísticas de Mortalidad y Natalidad, 2010 y Proyección de Población, CONAPO. Desde http://www.coteigep.puebla.gob.mx/est231.php?muni=21057#TABLA!A5
8. Farías Octavio N., A. Jalil A, Calva R. Identificación de agentes bacterianos en 654 exudados faríngeos de niños con faringoamigdalitis. Revista mexicana de pediatría. Año 2003. (70)1: 7-11
9. Forbes Betty, Sahm Daniel, Weissfeld Alice, Bailey & Scott. Diagnóstico Microbiológico. 12ª. Ed. 2009
10. Fuentes Paez Y, Martinez Motas I, Sierra Gonzalez G, Izquierdo Perez L, Lopez Piñera O, Valdes Hernandez MJ. Colonización faríngea por bacterias potencialmente patógenas en niños sanos de una escuela primaria, Panorama Cuba y Salud, 2008.
11. Gaitán-Cepeda LA, Sánchez-Vargas LO, Pavia-Ruz N, Muñoz-Hernández R, Villegas-Ham J, Caballos-Salobreña A. *Candida* bucal en niños mexicanos con VIH/sida, desnutrición o marginación social. RevPanam Salud Publica. 2012;31(1)48–53.
12. Giannelli, Silvana M. Posse, G. R. Prevalencia de portación asintomática del estreptococo b hemolítico grupo A (Streptococcus pyogenes). *Arch. argent. pediatr.* Año 2007. 105)3:221-224.
13. Jaimes AA, Hernández PF, Martínez HE, Rodríguez CAA, Arenas GR. Portadores de *Candida* en la mucosa oral: tipificación de 35 cepas con CHROMagar Candida. Med Int Mex 2008.
14. Kauffman CA, (2009). Candidiasis. En: Goldman L, Ausiello D, eds. Cecil Textbook of Medicine. 23rd ed. Philadelphia, Pa: Saunders; 2007: chap 359. Desde: https://www.clinicadam.com/salud/5/000626.html

15. Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. Diagnóstico Microbiológico. 6ª ed. Ed. Médica Panamericana SA. Buenos Aires, 2008
16. Linder JA. Bates DW, Lee GM, Finkelstein JA. Antibiotic treatment of childrenwith sore throat. JAMA Año 2005. Tomado de la página de internet, http://www.iatreia.udea.edu.co/index.php/iatreia/article/viewFile/1788/11
17. Llop, A, Valdes-Dapena, V & Suazo, S Microbiología y Parasitología médica. Tomo I, Ed. Ciencias Médicas, Ciudad de la Habana Cuba. 2001
18. Madigan, M. T., Martinko, J. M., y Parker, J. Brock Biología de los Microorganismos. 12ª edición. Prentice-Hall. Madrid, 2009
19. Mariazza Rodriguez J. Carrillo Bendezú E., Presencia de *Klebsiella pneumoniae, Enterobacter aerogenes* (Enterobacteriaceae) y *Staphylococcus aureus* coagulasa positivo (micrococcaceae) en la orofaringe de individuos jóvenes sanos. Revista de Investigacion de la Universidad de Norbert Wiener. 2013. Num. 2
20. Morse, Stephen A: Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg, México, 16ª edición, Manual Moderno, 2005.
21. Núñez Martínez JP. Detección de *Staphylococcus aureus* y su resistencia antibacteriana en niños portadores asintomáticos de Pachuca*, Hidalgo.* Tesis Med. Cirujano. Univ. Autónoma del Estado de Hidalgo, Inst. de Cien. De la Salud*.* 2007
22. Patrick R. Murray. Microbiología Médica 6 Ed. España: Elsevier-Mosby. 2009
23. Prescott, L. M., Harley, J. P., y Klein, D. A. Microbiología. 5ª edición. McGraw-Hill Interamericana, 2002.
24. Romero cabello. Microbiología y Parasitología Humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. Tercera Edición México. Editorial Médica Panamericana. Año 2007
25. Rubinstein, B. Bavdaz, S. De. Bunder, N. Blazquez. Incidencia de faringitis por *Streptococcus pyogenes* en Bariloche, Argentina. Rev.argent. microbiol. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Año 2005. (37)2;18-27
26. Rueda-Gordillo F, Hernandez-Solis SE, Prevalencia de *Candida albicans* aislada de la cavidad oral de pacientes con cáncer, Revista Odontológica Latinoamericana, Volumen 0, Numero 2, pp 38-41, septiembre 2008.
27. Ryan K, Ray C. Sherris Microbiología médica. 4 ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2004.
28. Tortora Gerard J., Berdell R. Funk, Crystine L. Case. Introducción Médica a la Microbiología, Novena edición Editorial Médica Panamericana Año 2007.
29. Tresguerres, J.A.F. Fisiología humana. 3º ed. Madrid: McGraw-Hill, Interamericana; 2005.
30. Valencia Cruz I.K., Calderon Morales R. Callisaya H. E., Choque Huanca M. Evaluación de medios de cultivo para el aislamiento de *Streptococcus pyogenes* en pacientes con diagnóstico clínico de faringoamigdalitis. BIOFARBO, (62-68), junio 2010.
31. Velasco León EC. Mendiola García A, Pizano Damasco MI, Candidiasis oral en paciente pediátrico sano. Revisión bibliográfica. Oral año 14 Num. 44. 2013, 956-964, abril 2013

32. Villanueva Reyes Janeth, Candidiasis mucocutanea. Una revisión, Revista Mexicana de Micología, (91-104), noviembre 2007.
33. White Mediaceja VL, Martínez Mota I, Fuentes Páez Y, Valdés Hernández MJ, Izquierdo Perez L., Colonización de bacterias potencialmente patógenas en la faringe de adultos sanos y factores de riesgo asociados. Panorama Cuba y Salud, Vol 7 Num 1, 2012, 24-30, Abril 2012
34. INEGI. Censo de Población y Vivienda, 2010. Tomado de la página de internet: http://www.coteigep.puebla.gob.mx/est231.php?muni=21057#TABLA!A5
35. Secretaría de Salud del Estado de Puebla. Tomado de la página de internet: http://www.coteigep.puebla.gob.mx/est231.php?muni=21057#TABLA!A5

ANEXOS

Puebla de Zaragoza a __ de Junio del 2015

ASUNTO: AUTORIZACIÓN PARA TOMA DE MUESTRA DE EXUDADO FARINGEO

Respetable padre de familia y/o tutor. por medio de este comunicado se le pide autorización para que su hijo(a) forme parte de una tesis con fines de monitoreo de agentes causales de infecciones de vías respiratorias en la población escolar de la comunidad de Honey, municipio de Huauchinango, Puebla, el cual se lleva a cabo por parte de la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP, para lo cual se les tomará muestra de exudado faríngeo bajo su previo consentimiento.

Esta prueba es **segura**, su realización es **sencilla, indolora y lleva poco tiempo**. El laboratorista frota con un hisopo o aplicador de algodón estéril a lo largo de la parte posterior de la garganta cerca de las amígdalas y se procesa para aislar e identificar las bacterias causantes de las infecciones de garganta.

De dar su consentimiento se les pide de manera atenta que **no se haya ingerido alimentos ni bebidas, ni realizarse aseo bucal previamente a la toma de muestra. Los resultados del estudio les serán entregados de manera pronta y oportuna.**

YO _____ PADRE O MADRE DE FAMILIA Y/O TUTOR DEL ALUMNO(A): _____ QUIEN CURSA EL _____ GRADO GRUPO _____ EN ESTA INSTITUCIÓN AUTORIZO A MI HIJO (A) A SER PARTE DEL ESTUDIO DE MONITOREO DE AGENTES CAUSANTES DE INFECCIONES DE VIAS RESPIRATORIAS.

ATENTAMENTE

_____

NOMBRE Y FIRMA DEL PADRE,
MADRE O TUTOR QUE AUTORIZA

ENCUESTA

Nombre: _____
Edad: _____ sexo: _____ fecha: _____

Esta información proporcionada por usted, será confidencial y uso exclusivo para esta investigación.

1- ¿Con qué frecuencia se enferma?

2- ¿Padece alguna enfermedad crónica? Indique cual es

3- ¿Con que frecuencia asiste al médico?

4- ¿Consume alcohol?

5- ¿Usted fuma?

6- ¿Usted consume alguna droga?

7- ¿Con que frecuencia consume alimentos en la calle?