

Métodos fenotípicos y moleculares para la identificación de *Candida dubliniensis*

Phenotypic and Molecular Methods for the Identification of *Candida dubliniensis*

Silvia Serrano Álvarez^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-1723-3658>

Mayda Rosa Perurena Lancha¹ <https://orcid.org/0000-0002-5255-9012>

Rosario E. Velar Martínez¹ <https://orcid.org/0000-0001-9507-0578>

Javier Luis San Juan Galán¹ <https://orcid.org/0000-0001-5943-715X>

María Teresa Illnait Zaragoza¹ <https://orcid.org/0000-0002-8929-6172>

Carlos M. Fernández Andreu¹ <https://orcid.org/0000-0002-2306-0001>

¹Instituto de Medicina Tropical Pedro Kourí (IPK). La Habana, Cuba.

*Autor para la correspondencia: silvias@ipk.sld.cu

RESUMEN

Introducción: Las especies del género *Candida* pueden causar un amplio espectro de manifestaciones clínicas; aunque *Candida albicans* continúa siendo la de mayor relevancia, otras especies se aíslan cada vez con mayor frecuencia. Entre estas últimas, se conoce que *Candida dubliniensis* tiene una estrecha relación filogenética con la primera y puede desarrollar resistencia a los azoles, por lo que resulta imprescindible su correcta identificación. Aunque se han utilizado diversos métodos fenotípicos, son las técnicas moleculares las que definen su diagnóstico.

Objetivos: Identificar aislados clínicos del complejo *Candida albicans*, pertenecientes a la colección de hongos patógenos del Laboratorio Nacional de Referencia de Micología del Instituto de Medicina Tropical "Pedro Kourí" y

establecer un algoritmo de trabajo que permita la diferenciación entre *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*.

Métodos: Se reidentificaron 45 casos aislados presuntamente identificados como *Candida albicans*, procedentes de lesiones bucales de pacientes con VIH-sida. Se evaluaron diez métodos fenotípicos y se aplicó la reacción en cadena de la polimerasa que identifica los genes ITS1 e ITS2 del ARNr y el gen que codifica para la topoisomerasa II de *Candida*.

Resultados: La filamentación y producción de clamidosporas, el crecimiento en agar tabaco con Tween 80, la actividad enzimática y el desarrollo en agar Sabouraud trifeniltetrazolio permitieron la identificación presuntiva de cuatro aislados de *Candida dubliniensis*, lo cual se confirmó mediante la técnica molecular utilizada. Con estas herramientas se estableció un algoritmo en el laboratorio para la diferenciación de ambas especies.

Conclusiones: Los hechos ratifican la necesidad de combinar métodos fenotípicos y genotípicos para lograr una diferenciación concluyente entre *Candida albicans* y *Candida dubliniensis*.

Palabras clave: *Candida dubliniensis*; candidiasis bucal; VIH-sida; reacción en cadena de la polimerasa, identificación fenotípica.

ABSTRACT

Introduction: Species of the genus *Candida* can cause a wide spectrum of clinical manifestations; although *Candida albicans* remain the most significant, other species are being isolated with increasing frequency. Among the latter, *Candida dubliniensis* is known to be closely phylogenetically related to *Candida albicans* and can develop resistance to azoles, making its correct identification essential. While various phenotypic methods have been used, molecular techniques define its diagnosis.

Objectives: To identify clinical isolates of the *Candida albicans* complex from the pathogenic fungi collection at the National Mycology Reference Laboratory of Pedro Kourí Institute of Tropical Medicine, and to establish a workflow algorithm to differentiate *Candida albicans* from *Candida dubliniensis*.

Methods: Forty-five isolates previously identified as *Candida albicans*, obtained from oral lesions of patients with HIV/AIDS, were re-identified. Ten phenotypic methods were evaluated, and polymerase chain reaction was applied to identify the rRNA ITS1 and ITS2 genes and the gene encoding *Candida* topoisomerase II.

Results: Filamentation and chlamydospore production, growth on tobacco agar with Tween 80, enzymatic activity, and growth on Sabouraud triphenyltetrazolium agar allowed for the presumptive identification of four *Candida dubliniensis* isolates; this was confirmed using molecular technique. Based on these tools, a laboratory algorithm was established to differentiate between the two species.

Conclusions: These findings confirm the need to combine phenotypic and genotypic methods to achieve conclusive differentiation between *Candida albicans* and *Candida dubliniensis*.

Keywords: *Candida dubliniensis*; oral candidiasis; HIV/AIDS; polymerase chain reaction, phenotypic identification.

Recibido: 11/11/2024

Aceptado: 11/02/2026

Introducción

Las especies del género *Candida* pueden causar un amplio espectro de manifestaciones clínicas, desde infecciones localizadas a nivel de la mucosa oral o vaginal hasta las afectaciones más severas de órganos internos y candidemia. Estas infecciones se han incrementado de manera significativa en los últimos años a nivel mundial. Aunque se conocen más de 200 especies del género, *C. albicans* continúa siendo la especie de mayor relevancia clínica; sin embargo, otras especies se aíslan cada vez con más frecuencia.^(1,2)

En la actualidad se considera a *C. albicans* como un complejo de especies estrechamente relacionadas desde el punto de vista filogenético, donde se incluyen *C. albicans sensu stricto*, *C. dubliniensis* y *C. africana*. Esta última se reconoce como una subespecie de *C. albicans*, mientras que *C. dubliniensis*, desde su primer reporte en 1995 por Sullivan y Coleman,⁽³⁾ se ubica como una nueva especie. Esta estrecha relación con *C. albicans* representa un desafío diagnóstico importante, con posibles implicaciones terapéuticas, debido a su capacidad de desarrollar resistencia a los azoles.⁽⁴⁾

Tanto sus similitudes fenotípicas como su relación genética, dificultan la diferenciación entre ellas, aunque existen métodos fenotípicos específicos y otros de inmunodiagnóstico que favorecen la identificación presuntiva.⁽⁵⁾ No obstante, se precisa de pruebas moleculares para la confirmación de estas especies. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), mediante el empleo de secuencias de genes que no correspondan a subunidades de ácido ribonucleico (ARN), es altamente específica y fácil de usar.⁽⁶⁾

Hasta la fecha, las limitaciones para la identificación definitiva de *C. dubliniensis* hacen que se desconozca su verdadera incidencia.⁽⁷⁾ Su confirmación permitiría elegir una terapéutica certera en los pacientes afectados, así como una mejor comprensión de su papel como agente causal de candidiasis.⁽⁸⁾

Independientemente del país o la región, los porcentajes de recuperación de *C. dubliniensis* son muy variables; a pesar de ello, hay consenso en que prevalece como agente etiológico de lesiones bucales.^(3,7) Dichos antecedentes, junto con su hallazgo previo en Cuba,⁽⁹⁾ motivaron la realización de este trabajo, que tuvo como finalidad establecer un algoritmo, ajustado a las condiciones del Laboratorio Nacional de Referencia de Micología del Instituto de Medicina Tropical “Pedro Kouri” (LM-IPK), para identificar aislados clínicos del complejo *C. albicans*, recuperados de pacientes cubanos con lesiones bucales y, en particular, la identificación de *C. dubliniensis*.

Métodos

Se realizó un estudio retrospectivo observacional, descriptivo y de corte transversal, donde se emplearon 45 aislados del complejo *C. albicans*, identificados presuntamente en el LM-IPK. Estos se encontraban conservados en la colección de cultivos de hongos patógenos de dicho laboratorio. Para su caracterización se realizaron procedimientos convencionales y moleculares, de manera simultánea y a ciegas. Se utilizaron cepas controles, según lo descrito para cada técnica.

Identificación fenotípica

Para la identificación fenotípica de *C. dubliniensis* se estableció como criterio la coincidencia de positividad en, al menos, tres de las pruebas convencionales (cuadro), de acuerdo con las recomendaciones de Loreto y otros.⁽⁵⁾

Cuadro - Pruebas convencionales morfológicas y fisiológicas aplicadas en la identificación presuntiva de *C. albicans* y *C. dubliniensis*

Prueba de identificación presuntiva	Interpretación		Referencia
	<i>C. albicans</i>	<i>C. dubliniensis</i>	
Formación de tubo germinativo	Positivo	Positivo	McGinnis ⁽¹⁰⁾ Año 1980
Filamentación en agar arroz y en agar harina de maíz + Tween 80	Pseudomicelio Clamidosporas terminales y únicas	Pseudomicelio Clamidosporas múltiples	McGinnis ⁽¹⁰⁾ Año 1980
Morfología colonial y clamidosporas en agar tabaco + Tween 80	Colonias lisas y blancas clamidosporas terminales y únicas	Colonias rugosas doradas clamidosporas múltiples	Bartoli y otros ⁽¹¹⁾ Año 2011
Crecimiento en caldo Sabouraud hipertónico	Medio turbio	Medio claro	Bartoli y otros ⁽¹¹⁾ Año 2011
Crecimiento en agar Sabouraud trifeniltetrazolio	Colonias lisas rosas	Colonias ásperas violetas	Gamarra y otros ⁽¹²⁾ Año 2015
Crecimiento en CromoCen CND-F	Colonias verde esmeralda	Colonias verde esmeralda	Alfonso y otros ⁽¹³⁾ Año 2010
Crecimiento en Cromogenic <i>Candida</i> Agar	Colonias verde	Colonias verde - azules	Ghelardi y otros ⁽¹⁴⁾ Año 2008
Crecimiento a 45°C	Positivo	Negativo	Bartoli y otros ⁽¹¹⁾ Año 2011
Actividad lipolítica en agar Tween 80	Presencia de halo de opacidad	Ausencia de halo de opacidad	Bartoli y otros ⁽¹¹⁾ Año 2011
Auxonograma (API 20C AUX)	según perfil numérico		-

Identificación molecular

La identificación molecular de los aislados se ejecutó mediante la prueba de PCR a punto final, de acuerdo con el protocolo descrito por Estrada-Barraza y otros.⁽¹⁵⁾ Se utilizaron como controles positivos *C. albicans* ATCC 90028 y *C. dubliniensis* LM-IPK 0292, según el caso, mientras que como control negativo se dispensó agua ultrapura estéril.

Extracción y purificación del ADN

Se realizó la técnica de Chelex al 5 % en Tris-borato-EDTA 1X. Los extractos resultantes se conservaron a 4 °C hasta el momento de su uso.

Ensayo de la PCR

Se utilizaron cebadores específicos (Qiagen, Alemania), que amplifican los genes ITS1 e ITS2 del ARNr y el gen de la topoisomerasa II en *C. albicans* (CALB1 F TTT ATC AAC TTG TCA CAC CAG A, CALB2 R ATC CCG CCT TAC CAC TAC CG) y *C. dubliniensis* (CDBF28 AAA TGG GTT TGG TGC CAA ATT A, CDBR110 GTT GGC ATT GGC AAT AGC TCT A), con bandas resultantes de 273 pb y 816 pb, respectivamente. En un termociclador (Mastercycler Eppendorf, Alemania) se programaron 40 ciclos que incluyeron 30 s de precalentamiento a 96 °C, 30 s de desnaturalización a 95 °C, 30 s de hibridación de los cebadores a 58 °C, 30 s de extensión a 72 °C y 5 min de extensión final a 72 °C.

Análisis de los productos de la PCR

Los productos se visualizaron a partir de una electroforesis en gel de agarosa al 2 %, que se corrió a 110 V, 90 mA durante 45 min (cámara Thermo Scientific, EUA; fuente de Amersham Biosciences, Reino Unido); se usó un marcador de peso molecular de 100 pb (Promega, EUA). La identificación de *C. albicans* y *C. dubliniensis* se confirmó ante la presencia de bandas con pesos moleculares coincidentes con los controles positivos.

Procesamiento estadístico

Los resultados se introdujeron en una base de datos elaborada en el programa Microsoft Excel (Windows). Se realizó un análisis estadístico descriptivo, mediante medidas de resumen para variables cualitativas (frecuencia y porcentajes).

Resultados

Los aislados fueron identificados por API 20 AUX como *C. albicans* y, como era de esperar, todos formaron tubos germinativos y colonias de color verde en los medios cromogénicos. Los resultados del resto de las 11 metodologías aplicadas para la

identificación de los 45 aislados (basadas en las características micromorfológicas, fisiológicas, bioquímicas y moleculares) se muestran en la tabla.

Tabla - Distribución de los aislamientos según los resultados de las distintas pruebas

ID	AHM T80/AA-T80		ATT80		NaCl 6,5 %	lipasa	45 °C	ASTTZ				
	filam	clamid.	Color	textura				Color	textura	halo	PCR	PCR
											C. alb.	C. dubl.
1	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(-)	(+)	RC	rugosa	(-)	(+)	(-)
2	(+)	tripletes	dorada	lisa	(+)	(-)	(+)	RO	lisa	(-)	(-)	(+)
3	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
4	(+)	pares abundantes	blanca	lisa	(+)	(-)	(+)	RO	lisa	(+)	(-)	(+)
5	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(-)	(+)	(+)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
6	(+)	tripletes	dorada	lisa	(-)	(-)	(-)	RO	lisa	(-)	(-)	(+)
7	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
8	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	V	lisa	(-)	(+)	(-)
9	(+)	tripletes	dorada	lisa	(+)	(-)	(-)	RO	lisa	(-)	(-)	(+)
10	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
11	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(-)	(-)	RC	lisa	(-)	(-)	(+)
12	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RO	rugosa	(-)	(+)	(-)
13	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)

14	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(-)	(-)	V	lisa	(-)	(+)	(-)
15	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
16	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(-)	(-)	V	lisa	(-)	(+)	(-)
17	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
18	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
19	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
20	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
21	(+)	únicas y terminales	dorada	rugosa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(-)	(+)
22	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RO	rugosa	(-)	(+)	(-)
23	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
24	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	rugosa	(-)	(-)	(+)
25	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
26	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
27	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(+)	V	lisa	(-)	(+)	(-)
28	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(-)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
29	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
30	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)

31	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	V	lisa	(-)	(+)	(-)
32	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
33	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(-)	(+)
34	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
35	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(-)	(+)
36	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
37	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
38	(+)	tripletes	dorada	lisa	(+)	(-)	(-)	RO	lisa	(-)	(-)	(+)
39	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	rugosa	(-)	(+)	(-)
40	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
41	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(+)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
42	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
43	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RO	lisa	(-)	(+)	(-)
44	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)
45	(+)	únicas y terminales	blanca	lisa	(+)	(+)	(-)	RC	lisa	(-)	(+)	(-)

Leyenda: ID: identificación asignada; AHM-T80/AA-T80: agar harina de maíz con Tween 80 y agar arroz con Tween 80; ATT80: agar tabaco con Tween 80; ASTTZ: agar Sabouraud trifeniltetrazolio; filam: filamentación; clam: clamidosporas;

RO: rosado oscuro; RC: rosado claro; V: violeta; (+): positivo; (-): negativo

La prueba de filamentación y producción de clamidosporas, en agar harina de maíz y agar arroz suplementados con Tween 80, demostró la presencia de estructuras en

pares y tripletes en el 11,11 % (5/45). Con la utilización de agar tabaco con Tween 80 (ATT80) se constató en cinco aislados el desarrollo de color dorado de las colonias. Por otro lado, más del 90 % (93,33 %) mostró turbidez en el caldo de Sabouraud hipertónico, lo que evidencia la tolerancia osmótica. Todas estas situaciones se corresponden presuntivamente con la presencia de *C. dubliniensis*.

Otro resultado sugestivo en la identificación de esta especie estuvo dado por la ausencia en el 20 % (9/45) de los aislados de halo opalescente en la determinación de la actividad lipolítica en agar Tween 80. De igual manera, se constataron cinco aislados con morfotipos de color violeta en agar Sabouraud trifeniltetrazolio (ASTTZ); de ellos, cuatro mostraron halo micelial.

El 8,88 % (4/45) de los aislados estudiados del complejo *C. albicans* cumplió con el criterio establecido para su identificación fenotípica como *C. dubliniensis*. Ellos mostraron coincidencia de positividad en, al menos, tres de las siguientes pruebas: filamentación y formación de clamidosporas en agar de arroz y agar de harina de maíz (suplementados con Tween 80), crecimiento en ATT80, tolerancia osmótica, actividad enzimática y desarrollo en ASTTZ.

En cuanto a la detección molecular de las especies, la PCR simple de *C. albicans* confirmó la identificación fenotípica en 35 (77,78 %) de los aislados estudiados. Los restantes resultaron *C. dubliniensis* por la PCR.

Sobre la base de estos resultados, se diseñó un algoritmo para la identificación de *C. dubliniensis* en el LM-IPK (fig.).

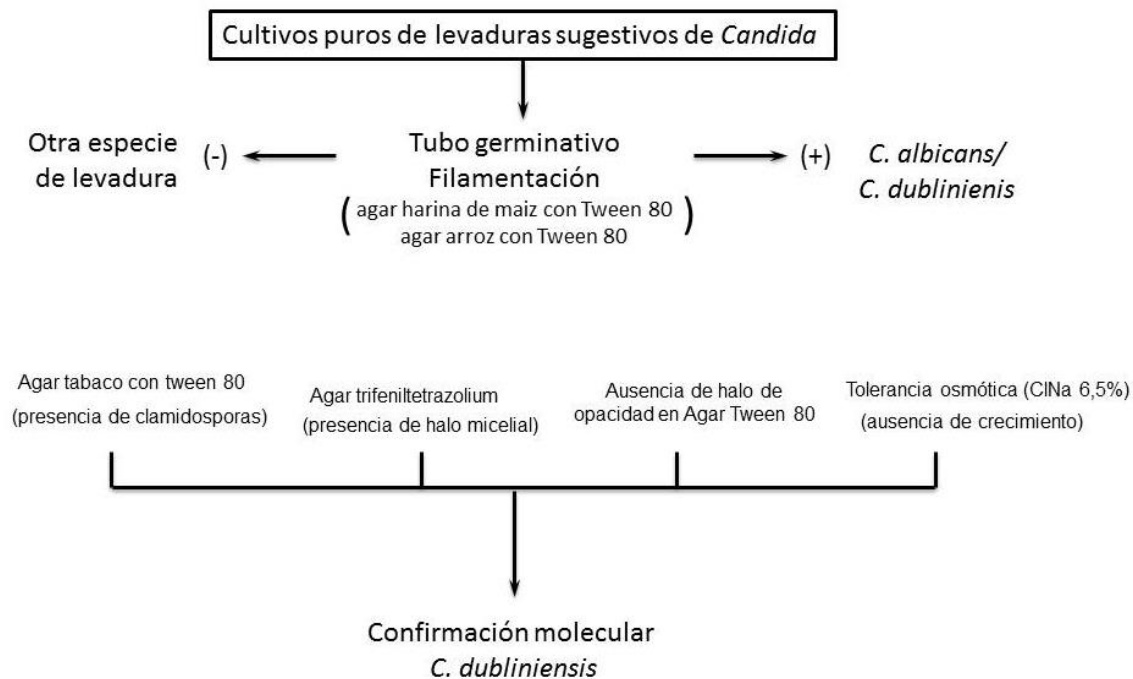


Fig. - Esquema de la propuesta de algoritmo para la identificación y confirmación de la especie *C. dubliniensis* en el LM-IPK.

Discusión

Los avances científico-técnicos permiten una identificación más rápida y específica de *C. dubliniensis*, lo que contribuye a demostrar su papel como agente causal de diferentes manifestaciones clínicas.^(16,17,18) La relevancia de su confirmación durante el curso de una infección recae sobre el conocimiento de la existencia de aislados resistentes a algunos antifúngicos, como el fluconazol y la 5-fluorocitosina, por lo que tratamientos empíricos inadecuados pudieran conducir a fracasos terapéuticos y al incremento del fenómeno de la resistencia.⁽¹⁹⁾

En Cuba, existe un solo reporte relacionado con *C. dubliniensis* y, generalmente, no se emplean herramientas diagnósticas para la diferenciación entre las especies del complejo *C. albicans*, lo que provoca posibles subregistros y el desconocimiento del comportamiento real de esta en nuestras condiciones.⁽⁹⁾ El estudio confirmó la circulación de dicho patógeno en el territorio nacional y permitió establecer una metodología acorde a las condiciones del LM-IPK para su identificación.

Ciertas características microscópicas resultan útiles para la identificación de especies de levaduras. Las más utilizadas por su sencillez y que permiten identificar el complejo *C. albicans* son la formación de tubo germinativo y la producción de clamidosporas.^(3,4)

En la actualidad se conoce que existe una estrecha relación entre la formación del tubo germinativo y el incremento de la adherencia a las células epiteliales bucales, lo que sugiere que este pudiera ser uno de los mecanismos relacionados con la virulencia de las especies de *Candida*.⁽²⁰⁾ Más del 50 % de las infecciones fúngicas en la cavidad bucal están producidas por *C. albicans*, por lo que diferenciar entre colonización e infección es esencial para el diagnóstico microbiológico. En este sentido, la detección de filamentos en la muestra resulta altamente sugestiva del carácter patogénico de la especie presente.^(21,22)

La función biológica de las clamidosporas es un enigma; se presume que estas permiten la sobrevivencia del hongo en ambientes adversos. Sin embargo, otras especies de *Candida* son incapaces de producirlas. De igual forma, se desconoce su papel en la patogénesis de la infección, temática abordada en un número muy limitado de investigaciones. A pesar de esto, la formación de dichas estructuras es de utilidad en la identificación del complejo *C. albicans*, ya que dentro del género solo sus especies las producen, excepto *C. africana*.⁽²³⁾

El agar arroz y el agar harina de maíz suplementados con Tween 80 son los medios de cultivo más empleados para la formación de clamidosporas. *C. albicans* suele producirlas de forma única, dispuestas distalmente en la hifa; y *C. dubliniensis* las produce en pares o tripletes al final de una hifa corta.⁽²³⁾ Otros autores consideran de poca relevancia esta prueba, ya que el 70 % de los aislados de *C. dubliniensis* y el 3,6 % de *C. albicans* producen estructuras de forma abundante; característica que no es reproducible en todos los laboratorios.⁽²⁴⁾

La utilización de ATT80 en este estudio permitió la evaluación del color y la textura de las colonias. Khan y otros⁽²⁵⁾ clasifican el uso de esta prueba como una herramienta ventajosa para la diferenciación presuntiva de ambas especies. En este medio *C. dubliniensis* es capaz de crecer y dar lugar a colonias doradas (color amarillo-marrón según otros autores) con abundantes clamidosporas, mientras que las colonias de *C. albicans* son de color blanco-crema y no producen esas estructuras.⁽²⁵⁾

El caldo de Sabouraud suplementado (NaCl 6,5 %) resulta de gran utilidad para la diferenciación de *C. dubliniensis* y *C. albicans*, ya que genera resultados reproducibles y consistentes. Algunos investigadores, después de aplicarla a más

de 600 aislados, concluyen que esta es una técnica 100 % específica.⁽²⁶⁾ No obstante, los resultados acerca de su fiabilidad en este sentido son variables.⁽²⁷⁾

La determinación de la actividad lipolítica en agar Tween 80 se basa en la liberación de ácidos grasos que se unen a los iones calcio y forman un complejo visible alrededor de las colonias. El método, propuesto por *Bartoli* y otros,⁽¹¹⁾ ha mostrado 100 % de coincidencia con la identificación molecular.⁽²⁸⁾

Según *Gamarra* y otros⁽¹²⁾ en un estudio de evaluación de morfotipos de colonias de levaduras en el medio ASTTZ, las colonias rosadas y violetas sin halo micelial coinciden con *C. albicans* y las violetas con halo micelial con *C. dubliniensis*.

Los resultados del presente estudio son similares a los obtenidos por *Lefler* y otros⁽²⁹⁾ en Israel, en 2001, los cuales reportan la identificación de dos aislados de *C. dubliniensis* a partir de 30 de ellos que se identificaron previamente como *C. albicans*. De igual forma, *Mosca* y otros⁽³⁰⁾ reportan la identificación de un aislado de *C. dubliniensis* en un estudio realizado en 12 pacientes adolescentes con prótesis palatina y estomatitis protésica. Diez de los casos se informaron como *C. albicans/C. dubliniensis*, debido a sus similitudes fenotípicas.⁽³⁰⁾ En ambos estudios las técnicas moleculares definieron la identificación.

En Cuba solo se conoce el antecedente de un estudio similar que involucró 115 aislados presuntamente identificados como complejo *C. albicans*, de los cuales el 11,3 % (13/115) quedó fenotípicamente reidentificado como *C. dubliniensis*.⁽⁹⁾

Diversos autores coinciden en señalar que los métodos fenotípicos para la diferenciación de estas especies son simples y económicos, pero por sí solos no permiten la identificación definitiva. La combinación de algunos de ellos pudiera brindar una identificación presuntiva.^(4,31)

Teniendo en cuenta las discrepancias en los resultados de estas pruebas, es difícil arribar a una diferenciación certera entre los aislados incluidos en el presente estudio. El uso de herramientas moleculares extiende las oportunidades hacia la diferenciación concluyente entre las especies del complejo *C. albicans*.

En este sentido, *Mariano* y otros⁽³²⁾ en Brasil, reidentificaron 548 aislados de *C. albicans*, pertenecientes a una colección de levaduras, mediante el análisis del poliformismo del ADN amplificado aleatoriamente (RAPD, por sus siglas en inglés) y se constató un 98 % de coincidencia (2 % identificados como *C. dubliniensis*). Resultados similares fueron publicados por *Jan* y otros⁽³³⁾ en la India, quienes demostraron concordancia en la totalidad de los aislados (186) pertenecientes a esta especie; en este caso, se analizó el polimorfismo de los fragmentos de restricción (RFLP, por sus siglas en inglés). En ambos estudios las muestras

procedieron de la cavidad oral de pacientes inmunocomprometidos (VIH y cáncer, respectivamente).^(32,33) Las discrepancias de la presente investigación con los trabajos citados pudieran deberse al tamaño relativamente pequeño de la muestra y a que la técnica que se usó tiene un poder discriminatorio inferior al de las mencionadas.

En contraste, Chavasco y otros⁽⁷⁾ en Brasil publican un 5,4 % de aislados de *C. albicans* reidentificados como *C. dubliniensis* por la técnica de PCR. Su investigación incluyó 37 aislados recuperados de exudados orales de pacientes VIH positivos y VIH negativos identificados por métodos convencionales. De manera similar, Livério y otros⁽⁸⁾ reidentificaron 29 aislados conservados en una colección de levaduras de igual procedencia que la del estudio antes referido, pero en pacientes pediátricos con VIH, de los cuales el 6,9 % pertenecía a *C. dubliniensis*; para ello se utilizó la secuenciación de ADN.

Las similitudes fenotípicas entre estas especies sin dudas demandan de técnicas de diagnóstico molecular con valores altos de sensibilidad y especificidad. Más recientemente, la espectrometría de masa (MALDI-TOF MS), que aún no se encuentra disponible en el país, ha mostrado elevados valores de sensibilidad y especificidad para la identificación de levaduras de interés clínico.^(34,35) Por su rapidez, están concebidas como de elección para el diagnóstico y, por lo general, se consideran como los estándares de oro. Su alto poder de discriminación las ubica dentro de las pruebas de avanzada necesarias para llegar a la identificación en especies.^(33,34,35)

Aunque existe la necesidad de utilizar métodos genotípicos para lograr una diferenciación concluyente entre las especies, las pruebas fenotípicas utilizadas de manera combinada aumentan el nivel de confiabilidad del proceso de identificación y permiten un diagnóstico presuntivo en laboratorios de pocos recursos o sin acceso a la alta tecnología.

Se concluye que algunos de los aislados conservados incluidos en el estudio pertenecían a la especie *C. dubliniensis*, lo que ratifica la necesidad de complementar métodos fenotípicos y genotípicos en la identificación certera de las especies del complejo *C. albicans*. La sensibilidad de las técnicas fenotípicas aumenta en proporción al número de las empleadas, siempre que entre ellas se encuentren la filamentación y producción de clamidosporas, la tolerancia osmótica, la actividad enzimática y el crecimiento en ASTTZ. La confirmación definitiva de la especie *C. dubliniensis* depende de la utilización de técnicas moleculares.

Referencias bibliográficas

1. Ordaya EE, Clement J, Vergidis P. The Role of Novel Antifungals in the Management of Candidiasis: A Clinical Perspective. *Mycopathologia*. 2023;188:937-48. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11046-023-00759-5>
2. Egger M, Salmanton-García J, Barac A, Gangneux JP, Guegan H, Arsic-Arsenijevic V. *Mycopathologia*. 2023;188:983-94. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11046-023-00776-4>
3. Sullivan-D, Coleman D. *Candida dubliniensis*: Characteristics and Identification. *J Clin Microbiol*. 1998;36(2):329-34. DOI: <https://doi.org/10.1128/jcm.36.2.329-334.1998>
4. Morales-López S, Ustate K, Pedrozo Z, Torres Y. Tipificación bioquímica y evaluación de la patogenicidad de aislamientos vulvovaginales del complejo *Candida albicans*. *Biomédica*. 2023;43(Supl.1):194-205 DOI: <https://doi.org/10.7705/biomedica.6861>
5. Loreto ES, Scheid LA, Nogueira CW, Zeni G, Santurio JM, Alves SH. *Candida dubliniensis*: epidemiology and phenotypic methods for identification. *Mycopathologia*. 2010;169(6):431-43. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11046-010-9286-5>
6. Taqi AL-Khazali M, Mousa Hassan B, Ahmed Abedlbrahim S. Molecular identificación of *Candida albicans* and *C. dubliniensis* using small subunit rRNA gene sequence in Kerbala, Iraq. *Archives of Razi Institute*. 2023;78(3):1035-40. DOI: <https://doi.org/10.22092/ari.2022.360086.2546>
7. Chavasco KJ, Paula RC, Hirata HM, Aleva AN, de Melo CE, Gambale W, et al. Molecular identification of *Candida dubliniensis* isolated from oral lesions of HIV-positive and HIV-negative patients in São Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2006 [acceso 10/12/2025];48(1):21-6. Disponible en: <https://www.scielo.br/pdf/rimtsp/v48n1/28195.pdf>.
8. Livério HO, da Silva L, Santos R, Noshikaku A, de Sousa AC, Paula RA, Domaneschi C. Phenotypic and genotypic detection of *Candida albicans* strains isolated from oral mucosa of AIDS pediatric patients. *Rev Inst Med Trop São Paulo*. 2017 [acceso 10/03/2025];59:e14. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/rimtsp/a/JVghXchKvMXjKGSxhq5SZFH/?lang=en&format=html>

9. Perurena MR, Fernández CM, Martínez GM, Mendoza D, Valdés EA. *Candida dubliniensis*: necesidad de establecer un diagnóstico correcto. Rev Cubana Med Trop. 2006 [acceso 10/12/2025];58(3):1-4. Disponible en: https://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0375-07602006000300014&script=sci_arttext&tlng=pt
10. McGinnis M.R. Laboratory Handbook of Medical Mycology, Academic Press INC, New York, USA; 1980.
11. Bartoli MZ, Cingolani B, García-Effron G, Gamarra S. Análisis de métodos fenotípicos para la diferenciación de *Candida dubliniensis* y *Candida albicans*. Propuesta de una secuencia de identificación. Revista FABICIB. 2011;15:138-49. DOI: <https://doi.org/10.14409fabicib.v15i1.888>
12. Gamarra S, Mancilla E, Dudiuk C, Garcia-Effron G. *Candida dubliniensis* and *Candida albicans* differentiation by colony morphotype in Sabouraud-triphenyltetrazolium agar. Rev Iberoam Micol. 2015 [acceso 10/12/2025];32(2):126-8. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1130140614000606>
13. Alfonso C, López M, Arechavala A, Perrone MC, Guelfand L, Bianchi M, integrantes de la Red de Micología del Gobierno de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires. Identificación presuntiva de *Candida* spp. y de otras levaduras de importancia clínica: utilidad de Brilliance *Candida* Agar. Rev Iberoam Micol. 2010 [acceso 10/12/2025];27(2):90-3. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1130140610000161>.
14. Ghelardi E, Pichierri G, Castagna B, Barnini S, Tavanti A, Campa M. Efficacy of chromogenic *Candida* agar for isolation and presumptive identification of pathogenic yeast species. Clin Microbiol Infect. 2008;14(2):141-7. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01872.x>
15. Estrada-Barraza D, Martínez DA, Flores-Padilla L, De Elías MR, Vargas LOS. Comparación entre métodos convencionales, ChromAgar *Candida* y el método de la PCR para la identificación de las especies de *Candida* en aislamientos clínicos. Rev Iberoam Micol. 2011 [acceso 10/12/2025];28(1):36-42. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1130140610001105>
16. Kakehi A, Hagiya H, Iio K, Nakano Y, Ihoriya H, Taira Y, et al. *Candida dubliniensis* fungemia in a patient with severe COVID-19: A case report. J Infect Chemother. 2022 [acceso 10/12/2025];28:1433-5. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2022.07.007>

17. Price C, Wilson I, Catchpoole E. *Candida dubliniensis* chronic meningitis in an immunocompetent patient: Case report and literature review. IDCases. 2023;31:e01665, DOI: <https://doi.org/10.1016/j.idcr.2022.e01665>
18. Jafroodifar A, Thibodeau R, Scalzett E. *Candida dubliniensis* Fungemia Leading to Infective Endocarditis and Septic Pulmonary Emboli. Cureus. 2023;15(5):e39031. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.39031>
19. Pedraza A, Olvera CI, Silvia J, Camarena G, Franco J. Riesgo de desarrollo de *Candida* no albicans en pacientes en terapia intensiva con uso previo de fluconazol. Med Crit. 2017 [acceso 10/12/2025];31(2):55-9. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-89092017000200055
20. Kim TH, Park BR, Kim HR, Lee MK. *Candida dubliniensis* screening using the germ tube test in clinical yeast isolates and prevalence of *C. dubliniensis* in Korea. J Clin Lab Anal. 2010 [acceso 10/12/2025];24(3):145-8. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/jcla.20373>.
21. Mosquera Cárdenas H. Identificación de *Candida* en cavidad bucal de pacientes con diabetes y VIH/sida. Rev Estomal. 2022;30(1):e9305. DOI: <https://doi.org/10.25100/re.v30il.9305>
22. Dubois VA, Salgado PA, Molgatini SL, Gliosca LA. Subgingival biofilm colonization by *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* in patients living with HIV from Buenos Aires, Argentina. Acta Odontol Latinoam.2024;30;37(3):191-202. DOI: <https://doi.org/10.54589/aol.37/3/191>
23. Vieille P. Identificación de cepas del complejo *Candida albicans* aisladas de muestras clínicas en la Región del Valparaíso, Chile. Boletín Micológico. 2022;37:2-8. DOI: <https://doi.org/10.22370/bolmicol.2022.37.1.3217>
24. Aboualigalehdari E, Tahmasebi M, Fatahinia M, Hosseinzadeh M. Oral colonization by *Candida* species and associated factors in HIV-infected patients in Ahvaz, southwest Iran. Epidemiol Health 2020;42:e2020033. DOI: <https://doi.org/10.4178/epih.e2020033>
25. Khan ZU, Ahmad S, Mokaddas E, Chandy R. Tobacco agar, a new medium for differentiating *Candida dubliniensis* from *Candida albicans*. J Clin Microbiol 2004[acceso 10/12/2024];42:4796-8. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC522288/>
26. Silveira-Gomes F, Sarmento DN, Espírito-Santo EP, Souza NO, Pinto TM, Marquesda-Silva SH. Differentiation between *Candida albicans* and *Candida*

dubliniensis using hypertonic Sabouraud broth and tobacco agar. Rev Soc Bras Med Trop 2011[acceso 10/12/2024];44:457-60. Disponible en: <https://www.scielo.br/j/rsbmt/a/Mx3fFJypj5V9bBpXXW5gjYB/?lang=en>

27. Camacho LD, Mata ES, Pardi G, Pineda V, Roselló A, Collela MT. Evaluación de diversos métodos fenotípicos para la diferenciación entre *Candida dubliniensis* y *Candida albicans*. Kasma 2012[acceso 10/12/2024];40(1):47-58. Disponible en: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0075-52222012000100005&lng=es&nrm=iso

28. Marcos-Arias C, Eraso E, Madariaga L, Aguirre JM, Quindós G. Phospholipase and proteinase activities of *Candida* isolates from denture wearers. Mycoses 2011[acceso 10/12/2024];54(4):e10-e16. Disponible en: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1439-0507.2009.01812.x>

29. Lefler E, Mccullough MJ, Clemons KV, Stevens DA. Initial isolation of *Candida dubliniensis* from the Middle East. Int J Infect Dis. 2001[acceso 10/12/2024];5:40-2. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1201971201900475>

30. Mosca OC, Moragues MD, Brena S, Rosa AC, Ponton J. Aislamiento de *Candida dubliniensis* en un adolescente con estomatitis protésica. Med Oral Patol Oral Cir Bucal 2005[acceso 10/12/2024];10:25-31. Disponible en: https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1698-44472005000100005

31. Duré C, Samudio M, Fariña N, Abente S, Pereira A, Guillén R, et al. Identificación molecular y perfil de sensibilidad antifúngica de *Candida albicans* y *Candida dubliniensis* aisladas de pacientes ambulatorios y hospitalizados. Med. clín. soc. 2024;8(3):280-8. DOI: <https://doi.org/10.52379/mcs.v8i3.431>

32. Mariano P, Milan E, Matta D, Colombo A. *Candida dubliniensis* identification in Brazilian yeast stock collection. Mem Inst Oswaldo Cruz 2003 [acceso 10/12/2024];98(4):533-8. Disponible en: <https://www.scielo.br/pdf/mioc/v98n4/v98n4a20.pdf>

33. Jan A, Bashir G, Fomda BA, Akeela F, Suhail M, Roohi S. Molecular Identification of *Candida dubliniensis* among *Candida albicans* Isolated from Oral Cavity of Cancer Patients using PCR-RFLP, in a Tertiary Care Hospital in Kashmir, India. Brit Microbiol Res J. 2016;14(2):1-7. DOI: <https://doi.org/10.9734/BMRJ/2016/25465>

34. Bonifaz A, Montelongo-Martínez F, Araiza J, González GM, Treviño-Rangel R, Flores-Garduño A, et al. Evaluación de MALDI-TOF MS para la identificación de

levaduras patógenas oportunistas de muestras clínicas. Rev Chilena Infectol. 2019;36(6):790-3. DOI: <https://doi.org/10.4067/S0716-10182019000600790>

35. Maldonado I, Cataldi S, Garbasz C, Relloso S, Striebeck P, Guelfand L et al. Identificación de levaduras del género *Candida*: los métodos convencionales frente a MALDI-TOF MS. Rev Iberoam Micol. 2018;35(3):151-4. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.riam.2018.02.002>

Conflicto de intereses

Los autores no declaran conflicto de intereses.

Contribución de los autores

Conceptualización: Silvia Serrano Álvarez, Carlos M. Fernández Andreu y Mayda Rosa Perurena Lancha.

Curación de datos: Silvia Serrano Álvarez, Rosario E. Velar Martínez y Mayda Rosa Perurena Lancha.

Análisis formal: Silvia Serrano Álvarez, Rosario E. Velar Martínez y Javier Luis San Juan Galán.

Investigación: Silvia Serrano Álvarez, Carlos M. Fernández Andreu y Mayda Rosa Perurena Lancha.

Metodología: Silvia Serrano Álvarez, Carlos M. Fernández Andreu y Mayda Rosa Perurena Lancha.

Recursos: Mayda Rosa Perurena Lancha.

Visualización: Rosario E. Velar Martínez y Javier Luis San Juan Galán.

Redacción-borrador original: Silvia Serrano Álvarez, Carlos M. Fernández Andreu, Mayda Rosa Perurena Lancha, Rosario E. Velar Martínez, Javier Luis San Juan Galán y María Teresa Illnait Zaragoza.

Redacción, revisión y edición: Silvia Serrano Álvarez, Carlos M. Fernández Andreu, Mayda Rosa Perurena Lancha, Rosario E. Velar Martínez y María Teresa Illnait Zaragoza.