

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN CRISTÓBAL DE HUAMANGA

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE BIOLOGÍA



Resistencia a antifúngicos de elección de especies de
Candida aisladas de pacientes con candidiasis vaginal,
Ayacucho 2017.

TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGA EN LA ESPECIALIDAD DE MICROBIOLOGÍA

Presentado por la:

Bach. HERRERAS GÓMEZ, Lisbeth Roxana

AYACUCHO – PERÚ

2018

A Dios, a mis queridos padres
Mauro y Maximiliana y hermanas.

AGRADECIMIENTO

A mi *Alma Mater*, la Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga, a la Escuela Profesional de Biología, a sus docentes, en especial del Área Académica de Microbiología, quienes fueron parte de mi formación profesional y personal.

A la Blga. Miriam Meneses Meneses, encargada del Área de Micología del Laboratorio de Referencia Regional de Salud Ayacucho, por su participación como asesora externa y guiarme en el desarrollo del presente trabajo y apoyo incondicional.

Especial reconocimiento a la Dra. Susana Zurita Macalupú, Blga. Flor Urcia Ausejo, Tec. Lab. Alida Navarro Mariñas del Instituto Nacional de Salud, por permitirme realizar este trabajo y por la predisposición de absolver mis dudas e inquietudes.

Al Blgo. Mg. Víctor Luis Cárdenas López, asesor principal del presente trabajo, por su constante asesoramiento y apoyo incondicional para la ejecución del presente trabajo de investigación.

ÍNDICE GENERAL

	Pág.
DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	v
ÍNDICE GENERAL	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE ANEXO	xi
RESUMEN	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1. Antecedentes del estudio	3
2.2. Candidiasis vulvovaginal	11
2.3. Agente etiológico	11
2.4. Morfología	12
2.5. Taxonomía	13
2.6. Epidemiología	13
2.7. Patogenecidad	14
2.8. Cuadro clínico	18
2.9. Antifúngicos	18
2.10. Resistencia	20
III. MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1. Lugar de estudio	23
3.2. Diseño de estudio	23
3.3. Definición de la población y muestra	23
3.4. Toma y transporte de muestra	23
3.5. Consideraciones éticas	24
3.6. Identificación de especies de Candida	24
3.7. Prueba de susceptibilidad antifúngica	26
3.8. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM)	27
IV. RESULTADOS	31
V. DISCUSIÓN	37
VI. CONCLUSIONES	43
VII. RECOMENDACIONES	45
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
IX. ANEXOS	51

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Puntos de corte para fluconazol y voriconazol en (mm) por el método de Difusión en Disco.	22
Tabla 2. Intervalo de la CMI de los antifúngicos para las cepas control de calidad, obtenidas por el Método de Microdilución M27-A3.	30
Tabla 3. Puntos de corte según NCCLS en CMI ($\mu\text{g/mL}$) para fluconazol y voriconazol por el método M27-A3.	30
Tabla 4. Frecuencia de especies de Candida aisladas de pacientes con candidiasis vaginal, Ayacucho 2017.	33
Tabla 5. Susceptibilidad antifúngica a Fluconazol de especies de Candida, Ayacucho 2017.	34
Tabla 6. Susceptibilidad antifúngica a Voriconazol de especies de Candida, Ayacucho 2017.	35
Tabla 7. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria ($\mu\text{g/mL}$) de especies de Candida resistentes y sensibles dosis dependientes a Fluconazol y Voriconazol, Ayacucho 2017.	36

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Lectura visual de la evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria a fluconazol	53
Anexo 2. Lectura visual de la evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria a voriconazol	55
Anexo 3. Susceptibilidad antifúngica por el Método de Difusión en Disco y Microdilución en la detección de especies de Candida resistentes y SDD a Fluconazol y Voriconazol, Ayacucho 2017.	57
Anexo 4. Pruebas para la Identificación de especies de Candida	58
Anexo 5. Esquema de la prueba de susceptibilidad antifúngica por el Método de Difusión en Disco.	60
Anexo 6. Fotografía de una Cepa resistente a fluconazol y sensible a voriconazol	61
Anexo 7. Procedimiento para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria.	62
Anexo 8. Fotografía de la tesista procesando en el Laboratorio de Micología del Instituto Nacional (INS).	63
Anexo 9. Esquema de la preparación de las diluciones seriadas del antifúngico	64
Anexo 10. Esquema de la preparación de las diluciones para cargar en las microplacas.	64
Anexo 11. Esquema de la carga de los antifúngicos seriado a las microplacas.	65
Anexo 12. Esquema de la preparación del inóculo	65
Anexo 13. Esquema de la inoculación de las cepas a las microplacas.	66
Anexo 14. Lectura visual de la Concentración Mínima Inhibitoria en la lámpara de luz.	66
Anexo 15. Cuadro de Identificación de especies de Candida	67
Anexo 16. Permisos correspondientes de la investigación	68
Anexo 17. Matriz de consistencia	69

RESUMEN

La presente investigación tiene como objetivo principal determinar la resistencia a antifúngicos de elección de especies de *Candida* aisladas de pacientes con candidiasis vaginal. El presente estudio fue de tipo descriptivo, se aislaron 110 cepas de *Candida* a partir de secreciones vaginales provenientes del Laboratorio del Hospital Regional de Ayacucho, durante el periodo comprendido entre diciembre de 2017 y marzo de 2018. Las muestras fueron analizadas en el Área de Micología del Laboratorio Referencial de Ayacucho, mediante el método directo KOH 10% y aisladas en Agar Sabouraud Dextrosa con antibiótico y las cepas obtenidas fueron identificadas utilizando métodos convencionales producción de tubo germinativo, cultivo en Chrom Agar, producción de clamidosporas, prueba de la ureasa, asimilación de Carbohidratos, resistencia a la cicloheximida, formación de película en Caldo Sabouraud. La susceptibilidad antifúngica se realizó con el Método Difusión en Disco y para determinar Concentración Mínima Inhibitoria e identificar cepas resistentes por el método de Microdilución realizada este último en el Instituto Nacional de Salud. Los resultados muestran que la especie más aislada fue *Candida albicans* 86,4% (95/110), seguida de *Candida glabrata* 9,1% (10/110), *Candida parapsilosis* 2,7% (3/110), *Candida tropicalis* 0,9% (1/110) y *Candida krusei* 0,9% (1/110). Se obtuvo un total de cepas resistentes de *C. albicans* (10/95) a fluconazol con CMI $\geq$ 128 $\mu\text{g/mL}$ y para voriconazol (10/95) con CMI $\geq$ 16 $\mu\text{g/mL}$; *C. glabrata* fue S-DD (3/10) a fluconazol con CMI=16-32 $\mu\text{g/mL}$ y para voriconazol mostraron sensibilidad con CMI= 0,25 - 0,5 $\mu\text{g/mL}$; *Candida krusei* presentó resistencia a fluconazol con CMI $\geq$ 128 $\mu\text{g/mL}$ y sensibilidad a voriconazol con CMI = 0,25 $\mu\text{g/mL}$, por otro lado *Candida parapsilosis* y *Candida tropicalis* fueron sensibles a ambos antifúngicos.

Palabras claves: Resistencia, *Candida*, Susceptibilidad antifúngica, Fluconazol, Voriconazol, Concentración Mínima Inhibitoria.

I. INTRODUCCIÓN

La candidiasis vulvovaginal se encuentra entre las patologías más frecuentes del tracto genital femenino. Es la segunda causa en frecuencia de vulvovaginitis en la mujer en edad fértil, que se caracterizan por inflamación de la vulva y/o vagina. Se consideran como factores de riesgos para adquirir la infección por la alteración de la microbiota vaginal, el aumento del pH vaginal, traumatismos, aumento de hormonas sexuales como el estrógeno, embarazo, diabetes, uso de anticonceptivos, inadecuada higiene vaginal y la transmisión sexual y en ocasiones la vulvovaginitis es de origen multifactorial. El prurito, el eritema vulvovaginal y la leucorrea son las manifestaciones clínicas más notables.¹

Entre el 75-90% de las Candidiasis Vulvovaginal son producidas por *C. albicans*. El resto de levaduras son las llamadas especies no albicans, entre las que destaca *C. glabrata* en el 10-15% de casos, *C. tropicalis*, *C. krusei*, y con menor frecuencia, *C. guilliermondii* u otras.¹

El término "resistencia" se usa para describir una insensibilidad relativa de un microbio a un fármaco antimicrobiano probado *in vitro* y comparado con otros aislados de la misma especie². La resistencia de las levaduras a los agentes antifúngicos fue por muchos años un problema de poca importancia, pero recientemente se ha reportado un incremento en la resistencia a estas drogas, especialmente entre las especies de *Candida* no albicans, las cuales, a su vez, aparecen con mayor frecuencia en pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente.³ Se ha venido observando en estudios recientes el aumento del número de aislamientos a especies de *Candida* no albicans como agentes etiológicos de vaginitis.

La importancia de realizar cultivo e identificación de los aislados radica en el hecho de que algunas especies de *Candida* son resistentes naturales a ciertos imidazoles, como por ejemplo *C. krusei*, que es resistente natural al fluconazol, mientras que otras levaduras como *C. tropicalis* y *C. glabrata* presentan una

mayor resistencia a los azoles en general.³ A su vez, los estudios de vigilancia local y regional son fundamentales para realizar un seguimiento de las tendencias en resistencia.⁴

La resistencia antifúngica continúa creciendo y evolucionando a pesar de la aparición de nuevos fármacos, haciendo más complicado el manejo de los pacientes con infección fúngicas.

El presente investigación se considera importante porque va permitir conocer la etiología específica, con un enfoque particular en el aislamiento de especies de *Candida*, para tener una idea precisa de su frecuencia, así como su comportamiento terapéutico.

Se realizó un trabajo de tipo descriptivo donde se determinó la susceptibilidad antifúngica *in vitro* por método de Difusión en Disco para los antifúngicos de fluconazol y voriconazol, por otro lado se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria de las cepas de *Candida* por el método de Microdilución para identificar cepas resistentes. El presente trabajo de investigación planteó los siguientes objetivos:

Objetivo general

Determinar la resistencia a antifúngicos de elección de especies de *Candida* aisladas de pacientes con candidiasis vaginal, Ayacucho 2017.

Objetivos específicos

- Identificar especies de *Candida* aisladas de pacientes con candidiasis vaginal, Ayacucho 2017.
- Determinar la frecuencia de especies de *Candida* aisladas de pacientes con candidiasis vaginal, Ayacucho 2017.
- Determinar la susceptibilidad antifúngica de especies de *Candida* frente a antifúngicos de elección, Ayacucho 2017.
- Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria de las especies de *Candida* resistentes y sensibles dosis dependientes, Ayacucho 2017.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes del estudio

a. Antecedentes Internacionales

Díaz, M. y Col., (2016), en el trabajo titulado “Identificación y sensibilidad antifúngica *in vitro* de *Candida spp.* de origen vaginal a fluconazol, clotrimazol y nistatina en Chile”, seleccionaron al azar 145 cepas de *Candida spp.* aisladas de muestras de flujo vaginal. La identificación lo realizaron de acuerdo a los procedimientos estándares empleados en micología médica y la sensibilidad *in vitro* a tres antifúngicos, de uso común en ginecología. Se determinó por el método de microdilución en medio líquido (M27-A3). Los resultados indican que la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de fluconazol frente *C. albicans* fueron de 0,25 mg/L y 1 mg/L y para *C. glabrata* de 8 y 16 mg/L, respectivamente. Cinco aislados de *C. albicans* y un aislado de *C. tropicalis* fueron resistentes a fluconazol. Las CIM de clotrimazol frente a *C. albicans* fueron 0,03 mg/L y 0,06 mg/L y para *C. glabrata* de 0,25 mg/L y 1 mg/L, mientras que para nistatina fueron de 1 mg/L y de 2 mg/L, respectivamente para *C. albicans* y *C. glabrata*. Cinco aislados de *C. glabrata* y uno de *C. tropicalis* fueron resistentes a clotrimazol. Concluyendo en este estudio, *C. albicans* es la levadura más frecuentemente aislada, seguida de *C. glabrata*. Los antifúngicos evaluados resultaron ser activos *in vitro* para las cepas aisladas, excepto en seis aislados para fluconazol y seis para clotrimazol.⁵

Perrurena, M. y Col., (2015), en la investigación titulada “Susceptibilidad antifúngica de aislados vaginales de *Candida spp.* Cuba”. Se evaluaron los patrones de susceptibilidad *in vitro* de 28 aislados vaginales de *Candida*, ya identificados hasta el nivel de especie previamente. Las especies estudiadas fueron *C. albicans* (16), *C. glabrata* (5), *C. krusei* (2), *C. parapsilosis* (2), *C. tropicalis* (1), *C. inconspicua* (1) y *C. lusitaniae* (1). *C. albicans* es la causa más

frecuente de la candidiasis vulvovaginal, y en la mayoría de los casos existe una buena respuesta a la terapia antifúngica. De los 16 aislados de *C. albicans*, la totalidad (100 %) fue sensible a la anfotericina B, todas con CMI $\leq 0,5$ mg/L, concentración inferior al valor de corte que se sugiere para considerar como resistente a los aislados de las diferentes especies de candida (CMI ≥ 2 mg/L). Dos de los aislados de *C. albicans* mostraron resistencia al fluconazol con CMI ≥ 128 mg/L (12,5 %), dos al itraconazol con una CMI ≥ 4 mg/L (12,5 %), mientras que para el voriconazol un aislado (6,25 %) con una CMI ≥ 8 mg/L. Al evaluar la 5-fluorocitosina, 15 aislados (93,75 %) fueron sensibles y uno (6,25 %) fue resistente.⁶

Chillogallo, C. (2015), en la investigación titulada “Especies de Candida y su resistencia a fluconazol en muestras de secreción vaginal de mujeres embarazadas atendidas en el Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja”, determinó la frecuencia y especies de Candida y susceptibilidad frente al antimicótico más usado; además de la distribución de los datos según edad y vulvovaginitis recurrente (VVR). Para la susceptibilidad de Candida se usó la técnica de difusión en disco en agar. Participaron 67 mujeres embarazadas en cuyas muestras se identificaron un 74,2% (n=23) de *Candida albicans* y un 25,8% (n=8) de *Candida krusei* mientras que la determinación de resistencia a fluconazol fue de 30,4% (n=7) para *C. albicans* y 100% (n=8) para *C. krusei*; además el 44,4% (n=8) presentaron vulvovaginitis recurrente; las edades más frecuentes fueron entre 21 y 44 años correspondientes al 53,3 % (n=15). Concluye que la población más frecuente fue *Candida albicans*; y que el 100% de *C. krusei* presentó resistencia a fluconazol; también indica que la presencia de VVR no es un factor que se correlaciona a la resistencia a fluconazol y que en la etapa de fertilidad (21 a 44 años) las mujeres pueden ser más susceptibles a estas infecciones.⁷

Lemus, D. y Col., (2014), en su trabajo investigación titulada “*Candida spp.* aisladas en pacientes con vulvovaginitis de comunidades rurales del Municipio Caripe Estado Monagas, Venezuela”. Este estudio fue de tipo descriptivo, se realizó en consultorios médicos integrales de Caripe (La Elvira, La Placeta, San Agustín y Teresen), estado Monagas. Las participantes fueron mujeres con sintomatología del tracto vaginal, se obtuvo 23 cultivos positivos para Candida de un total 86 muestras aisladas (26,7%). El rango de edad en las mujeres con cultivo positivo fue de 15 a 60 años. La especie más aislada fue *Candida*

albicans (39,1%) mientras que otras *Candida spp* (60,9%), se identificaron: *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii* y *C. krusei*. Realizaron la prueba de susceptibilidad las cuales fueron sensibles al fluconazol 15/23 aislados particularmente todos los aislados de *C. albicans* y *C. guilliermondii*, fue resistente *C. krusei* y las otras especies: *C. tropicalis*, *C. glabrata* y *C. parapsilosis* presentaron susceptibilidad dosis dependiente al fluconazol.⁸

Corrales, T. (2013), en su investigación titulada “Factores de riesgo asociados a la resistencia *in vitro* de *Candida glabrata* a fluconazol en pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente”. Se evaluaron los factores de riesgo asociados a la resistencia *in vitro* de *Candida glabrata* a fluconazol en pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente. Se tomaron 140 muestras de secreción vaginal de pacientes procedentes del área de ginecología del Hospital Universitario “Antonio Patricio de Alcalá” y el Hospital de Veteranos “Dr. Julio Rodríguez”. Los resultados de la identificación demostraron que 55,4% de los aislados pertenecieron a *C. albicans*, 30,4% *C. glabrata*, 8,9% *C. tropicalis* y el 5,3% *C. guilliermondii*. En la prueba de susceptibilidad antifúngica, las cepas no *albicans* demostraron resistencia a fluconazol e itraconazol y 100% de sensibilidad a voriconazol. *C. glabrata* fue la especie mayormente aislada en los casos de candidiasis vulvovaginal recurrente. Los síntomas clínicos más resaltantes en este grupo de pacientes fueron: flujo cremoso, prurito y ardor; y entre los factores de riesgo asociados se encontraron la edad, el uso frecuente de antimicrobianos y el uso de dispositivos intrauterinos.⁹

Florida, R. y Col. (2011), en la investigación titulada “Caracterización de las especies de *Candida* halladas en muestras de exudado vaginal de mujeres sintomáticas” indica que el género *Candida* es un grupo de levaduras muy difundidas en la naturaleza, que puede causar patología en el ser humano, siendo la más habitual la vulvovaginitis. Las especies de *Candida glabrata*, *Candida guilliermondii* y *Candida krusei* presentan sensibilidad disminuida o nula al fluconazol. Para evaluar la sensibilidad se utilizó el método de difusión en placa. 46 muestras fueron estudiadas, los porcentajes de candidas obtenidos fueron: *C. albicans* 70 %, *C. glabarta* 15%, *C. guilliermondii* 11%, *C. krusei* 4%. La resistencia a fluconazol de *C. krusei* fue del 100%. *C. glabarta* y *C. guilliermondii* presentaron una sensibilidad intermedia en un 14% y 60%. El 100% de los aislamientos fue sensible a voriconazol. Concluye que es relevante la determinación de las diferentes especies de *Candida* que causan patologías

para evitar fracasos terapéuticos al impartir el tratamiento antifúngico, debido al aumento de resistencia a los azoles.¹⁰

Llovera, V. (2010), en su investigación “Prevalencia y sensibilidad de *Candida spp.* a fluconazol en la clínica de la Sociedad Anticancerosa de Maracay, Venezuela.” Para establecer la prevalencia de candidiasis vulvovaginal (CVV), registrar las manifestaciones clínicas y los factores de riesgo asociados así como, identificar las especies del género *Candida* y determinar la sensibilidad a fluconazol por dos métodos por la técnica de difusión en agar y la técnica de microdilución en caldo, fueron estudiadas 294 mujeres que acudieron a la Clínica de la Sociedad Anticancerosa. La prevalencia de CVV fue de 19,39%. Se identificó: *C. albicans* en 42,11% (24/57), seguida de *C. glabrata* 33,33% (19/57), *C. guilliermondii* 5,26% (03/57), *C. parapsilosis* 3,51% (02/57), *Candida spp.* 5,26% (03/57), *C. tropicalis* 1,75% (01/57) y *C. kefyr* 1,75% (01/57). El análisis estadístico reveló que el ardor, prurito y flujo fueron los signos y síntomas asociados a candidiasis vulvovaginal. De las cepas de *C. albicans* identificadas, 16 (76,19%) fueron sensibles a fluconazol por ambos métodos con 95,24% de concordancia, las cepas de *C. glabrata* fueron 100% resistentes por el método de referencia exhibiendo 57,14% de concordancia.¹¹

García, R. y Col. (2009), en su investigación titulada “*Candida glabrata*: un oportunista emergente en vulvovaginitis”. Se realizó un estudio en tres centros hospitalarios: Servicio de Ginecología del Hospital General de México; Hospital de la Mujer de la ciudad de México y Servicio de Ginecología del Hospital 20 de Noviembre del Instituto de Seguridad y Servicios Sociales de los Trabajadores del Estado. Para determinar la frecuencia de *Candida glabrata* en 325 pacientes con sintomatología clínica para candidiasis vulvovaginal, así como la sensibilidad de la misma a fluconazol por métodos de difusión en agar con sensidiscos y microdilución en caldo. La frecuencia para esta especie fue de 12.6 %. La resistencia de *Candida glabrata* al tratamiento con fluconazol se corroboró en este estudio: 68.2 % de las cepas fue resistente en pruebas de placas (sensidiscos) y 51.2 % en prueba de microdilución en caldo (método NCLSI), con una concentración mínima inhibitoria de 16 µg/mL.¹²

Duque, C. y Col. (2009). En su investigación “Caracterización de la candidiasis vulvovaginal en mujeres de la ciudad de Medellín, Colombia”, menciona que la candidiasis vulvovaginal afecta la mucosa vaginal y es causada por diferentes especies del género *Candida*. El objetivo de esta investigación fue caracterizar la

candidiasis vulvovaginal en un grupo de mujeres con vaginitis. Se incluyeron 150 pacientes con diagnóstico de vaginitis por *Candida*. La identificación de especie se confirmó por el método API 20 C AUX, y el perfil de sensibilidad por ATB fungus. La prevalencia de las diferentes especies de *Candida* fue de: *C. albicans* 80% (120), *C. parapsilosis* 10% (15), *C. glabrata* 5,3% (8), *C. tropicalis* 2% (3), *C. guilliermondii* 1,3% (2), *C. kefyr* 0,7% (1) y *Candida famata* 0,7% (1). En cuanto al perfil de sensibilidad a los antimicóticos se observó que el 90% de los aislamientos de *Candida albicans* fueron sensibles al fluconazol, itraconazol y voriconazol, el 10% intermedio a fluconazol y resistente a voriconazol e itraconazol. El 100% de los aislamientos de *C. glabrata* sensibles a fluconazol y voriconazol y el 50% resistente a itraconazol. *C. kefyr* fue intermedio a fluconazol en el 100% de los aislamientos. Todas las otras especies aisladas fueron 100% sensibles a los antimicóticos.¹³

Arechavala, A. y Col. (2007), en su investigación "Identificación y sensibilidad frente a fluconazol y albaconazol de 100 cepas de levaduras aisladas de flujo vaginal en Argentina" La candidiasis vulvovaginal aguda afecta a una elevada proporción de mujeres en edad fértil y es la segunda causa de vulvovaginitis después de la vaginosis bacteriana. La especie que se aísla con mayor asiduidad es *Candida albicans*. Sin embargo, la aparición de más de una especie hace necesaria la identificación a nivel de especie y la determinación del patrón de sensibilidad antifúngica ya que presentan mayor resistencia frente a las medicaciones de uso habitual. En este estudio se incluyeron 100 aislamientos provenientes de 94 pacientes con vulvovaginitis micótica aguda. La identificación demostró que el 86% correspondía a *C. albicans*, el 6% a *Candida glabrata*, y el resto se identificaron como *Candida inconspicua* (3%), *Candida krusei* (2%), y *Candida intermedia*, *Candida holmii* con un único aislamiento cada una (1%). Se determinaron las concentraciones inhibitorias mínimas de fluconazol y de albaconazol. *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. inconspicua* fueron las especies con mayor resistencia a fluconazol, en tanto que todas las cepas de *C. albicans* fueron sensibles. La Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de albaconazol fue mucho menor en todos los aislamientos.¹⁴

Pemán, J. y Col. (2006), en su investigación titulada "Actividad *in vitro* del voriconazol frente a levaduras y algas con los nuevos puntos de corte del patrón de resistencia". Indica que el voriconazol es un triazol de segunda generación derivado del fluconazol, pero con una potencia y espectro de actividad mayor,

con buena actividad *in vitro* sobre las especies de *Candida*. Recientemente, el Clinical Laboratory Standard Institute (CLSI) ha establecido los puntos de corte provisionales para el voriconazol, según los cuales una cepa se clasifica como sensible si la CMI es ≤ 1 mg/l, sensible dependiendo de la dosis si la CMI es 2 mg/l y resistente si la CMI es ≥ 4 mg/l. Según esta nueva información, se ha revisado los trabajos publicados. Se Incluyó un total de 27.340 aislamientos de levaduras, 24.177 del género *Candida*, 2726 del género *Cryptococcus*, 453 de otros géneros. Aproximadamente, el porcentaje de resistencia de las levaduras al voriconazol es del 1%, y el 71% de los aislamientos resistentes al fluconazol son sensibles al voriconazol.¹⁵

Mendoza, M. (2006), en su trabajo "Identificación de especies de levaduras del género *Candida* provenientes de pacientes con vulvovaginitis", Se estudiaron 60 pacientes con edades comprendidas entre 15 y 45 años, quienes asistieron a diferentes centros clínicos del área metropolitana de Caracas en Venezuela con sintomatología de vulvovaginitis. Entre las especies de *Candida*, *C. albicans* fue la más frecuentemente aislada 84%: n=50); *C. tropicalis* representó el 8% (n=5), *C. glabrata* el 3% (n=2) y *C. guilliermondii* 5% (n=3). Por otro lado señala que las especies "no albicans" se aíslan cada día con mayor frecuencia y es por ello que se hace necesario llegar hasta la identificación de especie en todos los casos del diagnóstico microbiológico de la vulvovaginitis por *Candida* y realizar de rutina las pruebas de sensibilidad a los antifúngicos de uso frecuente a estos aislados de levaduras.¹⁶

Buscemi, L. y Col. (2004), en su investigación "Estudio de las vulvovaginitis agudas en pacientes adultas, sexualmente activas, con especial referencia a la candidiasis, en pacientes del Hospital de Infecciosas Francisco J. Muñiz, Argentina". Los resultados del estudio microbiológico de muestras de flujo vaginal de 749 pacientes realizado en la Unidad Bacteriología del Hospital en Buenos Aires. Todas las pacientes con edades comprendidas entre los 17 y 52 años, sexualmente activas y padecían síntomas de vulvovaginitis aguda; 334 eran VIH-positivas. Se obtuvieron los siguientes resultados: *Lactobacillus spp* 50,6%, *Gardnerella vaginalis* 25,6%, *Candida spp* 17,4%, *Trichomonas vaginalis* 5,3%, *Neisseria gonorrhoeae* 0,3%. y *Streptococcus* grupo B 0,8%. En las mujeres VIH-positivas se comprobó una mayor incidencia de *Candida spp*. (21,6% vs 14,0%; p = 0,0086) y menor, aunque no estadísticamente significativa, de tricomoniasis (3,6% vs 6,7%; p = 0,0810). Las especies de *Candida* aisladas

fueron las siguientes: *Candida albicans* 76,8%, *Candida glabrata* 15,9%, *Candida parapsilosis* 2,9%, *Candida tropicalis* 1,5% y *Candida krusei* 0,7%. Se detectaron ocho infecciones (6,2%) por dos especies de *Candida* (*C. albicans* y *C. glabrata*). En cinco casos hubo infección mixta, *Candida spp.* + *Trichomonas vaginalis* (tres) y *Candida spp.* + *Gardnerella vaginalis* (dos). Los importantes hallazgos a destacar los siguientes hallazgos de este estudio: 1) la mitad de las pacientes con vulvovaginitis no presentó una biota microbiana patológica; 2) la incidencia de candidiasis vaginal fue significativamente mayor en mujeres VIH-positivas; 3) se observó una alta incidencia de *C. glabrata* (15,9%); 4) un 6,2% de candidiasis fue producido por *C. albicans* y *C. glabrata*; y 5) la mayoría de cepas de *C. albicans* fue sensible a fluconazol (CMI=0,5 µg/ml), en tanto que las cepas de *C. glabrata* fueron sensibles dosis dependiente (CMI=32 µg/ml).¹⁷

Azzam, M. y Col. ("2002), en su investigación "Vulvovaginitis por *Candida spp.* y *Trichomonas vaginalis* en mujeres sexualmente activas", se estudiaron 200 mujeres sexualmente activas, con edades comprendidas entre 14 y 68 años, con síntomas y signos de vulvovaginitis que asistieron a la consulta externa de ginecología del Complejo Hospitalario Universitario "Ruiz y Páez" y del Hospital "Raúl Leoni" en San Félix, Estado Bolívar, Venezuela. De las 200 pacientes evaluadas con vulvovaginitis, en sólo 57 de ellas se demostró el agente causal; *Candida spp.* representó el 84,2% (n=48) de los casos y *Trichomonas vaginalis* el 14% (n=8). Se encontró un caso de *Zygosaccharomyces spp.* (1,8%). El grupo etario predominante correspondió al de los 25-35 años, 38,6% de la población estudiada. Entre las especies de *Candida*, *C. albicans* fue la más frecuentemente aislada (87,5%; n = 42); *C. glabrata* representó el 10,42% (n=5) y *C. guilliermondii* el 2,08% (n=1). No se encontró asociación estadísticamente significativa entre la edad y la etiología de vulvovaginitis.¹⁸

b. Antecedentes Nacionales

Guerrero, B. y Col. (2013), en su investigación titulada "Resistencia de *Candida spp.* a fluconazol y voriconazol" indica que la tendencia de la resistencia de *Candida spp.* frente a los azoles, se está incrementando; en nuestro país es de uso común el fluconazol y voriconazol. Fueron evaluados, cultivos de *Candida spp.*, los que provinieron de infecciones en sangre, infecciones bucales y vaginales, recolectados desde tres centros de salud de Lima. Dichos cultivos fueron remitidos al Laboratorio de la Facultad de Tecnología Médica para su identificación y determinación de la sensibilidad antimicótica. Se evaluaron 102

cultivos para la sensibilidad al fluconazol (FCZ) y voriconazol (VCZ), por el método de difusión en agar (CLSI, 2009). La resistencia de *Candida spp.* a fluconazol fue del 32,4% y al voriconazol del 12,7% (diferencia estadísticamente significativa). Los cultivos de *Candida spp.* provenientes de boca y sangre fueron los más resistentes *Candida glabrata* y *C. krusei* fueron las especies con mayor resistencia al fluconazol y voriconazol.¹⁹

Muñoz, E. y Col. (2012), en su investigación “Aislamiento de *Candida albicans* de mujeres con candidiasis vaginal atendidas en el Hospital Regional Docente de Trujillo. Se determinó el porcentaje de aislamiento de *Candida albicans* en muestras de secreciones vaginales de mujeres atendidas en el Hospital Regional Docente de Trujillo. Se encontró que el 34.7% de secreciones vaginales contenían levaduras del género *Candida*; se aisló a *C. albicans* en el 60%, así mismo otras especies como *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondi* y *C. parapsilosis* en menores porcentajes.²⁰

Guevara, J. y Col. (2000), en su investigación “Variedades de *Candida* en mujeres con flujo vaginal anormal”, demostró que de 100 pacientes estudiadas con flujo vaginal anormal en los consultorios externos de ginecología del Hospital Arzobispo Loayza de la ciudad de Lima, se reportó 24 casos con diagnóstico de candidiasis, de las cuales se identificó las siguientes especies: 50% de *Candida albicans*, 25% *Candida tropicalis*, 16% *Candida famata*, 4% *Candida glabrata* y 4% *Candida krusei*.²¹

c. Antecedentes Locales

Mancilla, G. (2012), en su investigación titulada “Sensibilidad antifúngica de especies de *Candida* aisladas de mujeres con candidiasis vaginal, Hospital Regional de Ayacucho”. Demostró en 101 muestras que la frecuencia de levaduras corresponde a *C. albicans* 81,2% (82/101), seguida por *C. glabrata* 15,8% (16/101), *C. dubliniensis* 1%, *C. parapsilosis* 1% y *C. lucitaniae* 1% (1/101) respectivamente. El 12,2% *C. albicans* y 6,25% *C. glabrata* presentaron resistencia frente a voriconazol, por otro lado el 15,9% *C. albicans* y 12,5% *C. glabrata* presentaron resistencia frente a fluconazol y el 3% de *C. albicans* presentó resistencia frente a nistatina.²²

Oscoco, L. (2014), en su investigación titulada “Sensibilidad antifúngica de especies de *Candida* aisladas de secreción vaginal de gestantes que acuden al Hospital Regional Miguel Ángel Mariscal Llerena, Ayacucho 2014”. La población a estudiar fueron mujeres gestantes que acudieron a la atención médica, la cual

quedó conformada por 72 pacientes. Para realizar la sensibilidad antifúngica se utilizó el método de disco difusión en agar. Se encontró que 39 (54,2%) presentaron candidiasis, 84,6% correspondió a *C. albicans* seguida de *C. guilliermondii* 15,4%. El 89,7% de las cepas fueron sensibles al fluconazol y 94,9% al voriconazol. Entre otros resultados se observa que el 27,9% de las gestantes con candidiasis se encontraron entre las edades de 25 a 35 años, 23,7% corresponde al estado civil conviviente, el 19,4% de las gestantes tuvieron candidiasis entre las 10-20 semanas de gestación y el 20,8 % tiene grado de instrucción superior.²³

2.2. Candidiasis vulvovaginal

La candidiasis, conocida también como candidiasis vulvo-vaginal o CVV, es una infección micótica común que ocurre cuando hay sobre crecimiento del hongo llamado Candida. La Candida siempre está presente en el organismo en pequeñas cantidades. No obstante, cuando ocurre un desequilibrio, por ejemplo, cambios en la acidez normal de la vagina o cambios en el equilibrio hormonal, la Candida puede multiplicarse. Cuando esto ocurre, aparecen los síntomas de la candidiasis. La candidiasis vulvo-vaginal es la segunda causa más común de infección vaginal que afecta principalmente a mujeres entre 20 y 40 años.²⁴

Es la forma más frecuente de infección genital en la mujer, especialmente durante el embarazo, fase premenstrual, diabéticas y usuarias de anticonceptivos orales o jabones vaginales de pH ácido. Es un proceso relativamente frecuente, muchas veces recurrente, que supone un 25-30% de las infecciones vaginales. La infección se adquiere por transmisión sexual o a partir del reservorio fecal.²⁵

2.3. Agentes etiológicos

El principal agente es *Candida albicans*, pero pueden estar implicadas otras especies de Candida, como, *Candida dubliniensis*, *Candida glabrata*, *Candida famata*, *Candida krusei*; *C. lusitaniae*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, etc.²⁶

Las especies de Candida como agentes etiológicos de las Candidiasis, han emergido como unos de los patógenos oportunistas por excelencia, relacionados con la especie humana. *Candida spp.* es un microorganismo comensal oportunista presente en mucosa vaginal de un gran número de mujeres. *Candida albicans* es la especie encontrada con más frecuencia. Sin embargo *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*, y *C. parapsilosis* también han sido aisladas de pacientes, con una amplia distribución geográfica.²⁷

2.4. Morfología

El género *Candida* es un grupo de microorganismos fúngicos que presentan una morfología de levadura unicelular de 3 a 5 μm y que se asocian ecológicamente a seres vivos. Este hongo puede presentarse con distintas morfologías: forma de levadura, denominada blastoconidia, o formas filamentosas denominadas hifas y pseudohifas. La forma de blastoconidia se ha caracterizado como la forma comensal de *Candida*, mientras que las formas filamentosas se han asociado a procesos de patogénesis.²⁸ Las pseudohifas se forman cuando las yemas siguen creciendo, pero no se desprenden y así producen cadenas de células alargadas. A diferencia de otras especies de *Candida*, *C. albicans* es dimórfica. En medios de agar o en término de 24 h a 37°C o a temperatura ambiental, las especies de *Candida* producen colonias blandas de color crema con un olor a levadura.²⁹

Las levaduras de *C. albicans* forman hifas verdaderas o tubos germinativos y en medios con deficiencia de nutrientes *C. albicans* produce grandes clamidosporas esféricas. Se pueden utilizar la fermentación en azúcar y métodos de asimilación y definir la especie de las *Candida* más comunes, como *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. kefyr*, *C. krusei* y *C. lusitaniae*; la variedad *C. glabrata* tiene la peculiaridad entre los patógenos de ese grupo, de que produce solamente levaduras y no pseudohifas.²⁹

Estos microorganismos presentan una pared celular (PC), que protege la célula de cambios osmóticos, además de interactuar con el medioambiente, interviene en procesos de crecimiento celular, adherencia a la célula hospedera (responsable del contacto y adhesión incluyendo las células fagocíticas), rigidez, integridad y morfología celular, formación de biopelícula, funciones enzimáticas, antigenicidad y capacidad de modular la respuesta inmune del hospedero, entre otras. Está compuesta por polisacáridos (glucano, manano y quitina), proteínas y lípidos. El glucano representa el principal polisacárido estructural de la PC, a él se unen covalentemente otros compuestos y es el responsable de su rigidez.³⁰

La manosa determina la porosidad de la pared, interviene en procesos de adhesión al reconocer receptores específicos del hospedero localizados en la matriz extracelular (laminina, elastina, colágeno y fibronectina), el suero (fibrinógeno y fibrina), células epiteliales y endoteliales, juegan un papel importante en la morfogénesis, le confieren hidrofobicidad a la superficie celular e inhiben la respuesta antigénica específica de las células T observadas en el hospedador durante la candidiasis.³⁰

La membrana plasmática consiste en una bicapa lipídica intercalada con proteínas globulares encargadas de dirigir la entrada y salida de nutrientes y metabolitos. El ergosterol representa el principal esteroide de membrana, esencial para la integridad y funcionalidad.³⁰

2.5. Taxonomía del Género Candida

Con la actual taxonomía basada en secuenciaciones de genes, se clasifican:³¹

Dominio : Eucarya
Reino : Fungi
Phylum : Ascomycota
Subphylum : Ascomycotina
Clase : Ascomycetes
Orden : Saccharomycetales
Familia: : Saccharomycetaceae
Género : Candida

El género *Candida* incluye aproximadamente a 154 especies, entre ellas, *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. dublinensis*, son frecuentemente aisladas de infecciones en humanos, siendo *C. albicans* la más relevante en términos de patogenicidad.²⁴

2.6. Epidemiología

El género *Candida* es cosmopolita. Se considera una de las infecciones oportunistas más frecuentes en humanos. La incidencia se ha elevado durante los últimos 30 años. Entre las micosis, abarca 7,45% y constituye 25% de las micosis superficiales. Afecta a individuos de cualquier edad, grupo étnico o sexo.³¹

Candida vive en equilibrio con otros microorganismos del cuerpo humano, y coexiste como comensal, cuando este equilibrio se pierde, se torna patógena y causa afección mucocutánea.³¹

Las levaduras del género *Candida* existen en la naturaleza, en el suelo y agua dulce, vegetales, frutas, exudado de árboles, granos y en general toda sustancia rica en hidratos de carbono simples. Además, son habitantes habituales del aparato digestivo, respiratorio y regiones muco-cutáneas del hombre y animales domésticos. El sistema gastrointestinal humano tiene una población pequeña pero constante de *C. albicans*. La piel normal también puede presentar levaduras residentes, que incluye *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. krusei*. Otras especies como *C. albicans* y *C. tropicalis* no se encuentran con regularidad en la

piel normal, salvo en la región ano-genital y alrededor de la boca. En la mucosa vaginal normal se puede aislar *C. albicans* y con menor frecuencia *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis* y *C. krusei*.^{26,31}

2.7. Patogenecidad

Las interacciones del hongo con el hospedador son críticas para determinar la evolución hacia un proceso infectivo, siendo determinantes los mecanismos intrínsecos y adquiridos de resistencia del hospedador. La capacidad patógena del género *Candida* depende principalmente del estado inmunológico del hospedador. Sin embargo, algunas características del hongo hacen de él un patógeno potencial. Es necesario considerar las relaciones entre *Candida* y su hospedador como un conjunto de procesos que incluyen la expresión de determinantes fúngicos de virulencia frente a las barreras y las respuestas inmunitarias del hospedador.³²

Candida obtiene acceso al lumen vaginal principalmente a partir de la región perianal adyacente; los cambios en el ambiente local determinarán el inicio de la historia natural de la enfermedad. La colonización de la vagina requiere la adherencia de las levaduras a las células epiteliales por medio de mananoproteínas (adhesinas). La infección es mediada por enzimas proteolíticas, fosfolipasas y aspartil-proteinasas. *Candida spp.* También produce gliotoxina, molécula que inhibe la actividad fagocítica de las células del sistema inmune innato. El desarrollo de blastoconidios y pseudohifas, destruye las células del epitelio vaginal por invasión directa.³³

El primero paso infectivo es la adhesión, es crucial en la supervivencia de las esporas. En este sentido, la capacidad de adhesión de *C. albicans* es superior a la de otras especies y ello podría explicar la mayor frecuencia de esta especie en este tipo de infecciones. La adhesión tiene lugar por la unión a un receptor de membrana (iC3b y fibronectina) por parte de una proteína transmembrana de la membrana micótica (análoga a la integrina). Esta proteína micótica es capaz de anclarse en el receptor epitelial. Existen factores que pueden actuar como promotores o facilitadores del proceso de adhesión. En este sentido, un ambiente hiperestrogénico incrementa la exposición de los complejos epiteliales glicoproteicos que actúan como receptores facilitando así la adherencia de los hongos a la superficie epitelial. De hecho la vulvovaginitis candidiásica es menos frecuente en situaciones de hipoestronismo (premenarquia, postmenopausia). Por otro lado, la gestación y la ingesta de anticonceptivos orales de alta dosis incrementan la proclividad a este tipo de infecciones.³⁴

Por otro lado la adhesión depende de condiciones ambientales, pero también es influida por factores del hospedero, como: hidrofobicidad; mimetismo de las proteínas de superficie que puede afectar la unión a neutrófilos y, por tanto, la fagocitosis; el tipo de medio para su crecimiento y condiciones del mismo, así como las alteraciones hormonales e inmunitarias. Además de lo anterior, *Candida* es capaz de formar biopelículas (biofilms), mediante polímeros que les permiten una fuerte unión, y les confieren capacidad defensiva y mayor resistencia a los antifúngicos. Las forman principalmente *C. albicans* y *C. parapsilosis*.³⁰

Otro factor que puede afectar la capacidad de adhesión de los hongos es la competencia con la microbiota vaginal, concretamente con los lactobacilos vaginales. Los lactobacilos inhiben la adhesión de esporas micóticas a la superficie epitelial mediante un proceso de co-agregación y competencia por los receptores. De esta forma, una reducción de la microbiota vaginal de lactobacilos condiciona un incremento del riesgo de infección micótica.³⁴

Una vez adheridas, las esporas son incapaces de penetrar en el epitelio vaginal y causar una vulvovaginitis. Para ello es necesaria la germinación de las esporas y el desarrollo de hifas y micelios. Generalmente, las especies de *Candida* que no se adhieren no son patógenas. Una vez formados los micelios, *Candida* es capaz de penetrar e invadir el epitelio vaginal. Este proceso de penetración está directamente relacionado con la producción de una serie de proteasas capaces de destruir proteínas con función defensiva a nivel de la mucosa vaginal por parte de las hifas.³⁴

La invasión epitelial ocasiona la liberación de una serie de sustancias (prostaglandinas, bradiquinina) con capacidad de inducir cambios inflamatorios a nivel local: ello ocasiona edema, eritema e incremento del flujo vaginal. De hecho, la leucorrea candidiásica consiste en una mezcla de células vaginales exfoliadas y polimorfonucleares. En este sentido, los estrógenos promueven también el desarrollo de micelio facilitando la penetración y consiguiente aparición de una infección clínica.³⁴

2.7.1. Relación hospedero-parásito

La inmunidad innata, como la adaptativa (celular y humoral) tienen una importante participación en el establecimiento de *Candida* como comensal o patógeno. Cabe enfatizar que³³

- La protección inmunológica contra *Candida* y el control de la candidosis en las mucosas, depende en gran medida de la inmunidad mediada por células, especialmente linfocitos tipo Th1.
- Los anticuerpos anti-*Candida* tienen como función primordial, controlar la presencia y el crecimiento de la levadura y así *Candida spp.* puede persistir en la mucosa vaginal de mujeres sanas, pero sin causarles problemas.
- La inhibición de las formas hifales, lograda por mediadores de inmunidad innata o adaptativa, evita el establecimiento de la enfermedad, mas no la colonización.
- Cualquier defecto inmunológico local que implique una deficiencia en el componente secretor o en la producción de las diferentes clases de inmunoglobulinas, puede tener una influencia enorme en la “transformación” de *Candida* comensal a patógena.³³

2.7.2. Mecanismos naturales de defensa vaginal

El mecanismo de defensa vaginal consta básicamente de cuatro elementos.³⁵

- Barrera física que impone el tejido mucoso
- Barrera inmunológica (humoral y celular)
- La flora endógena (bacilos de Döderlein)
- Secreción de moco vaginal.

El epitelio de la vagina segrega sustancias tal como lisoenzimas, ácidos débiles, lípidos e inmunoglobulinas (Ig A e Ig G), estas sustancias agraden a elementos extraños o crean las condiciones adecuadas para mantener el equilibrio entre los microorganismos que la pueblan.³⁵

El epitelio vaginal es pluriestratificado, esto quiere decir que las células del epitelio se disponen en capas superpuestas, normalmente unas cuarenta. Del grosor y condiciones de este tejido depende en gran parte su función como barrera. Los estrógenos favorecen la maduración y formación del epitelio, además de estimular la producción de glucógeno (azúcar) en el interior de sus células.³⁵

Todos los epitelios (incluida la piel) tienden a eliminar la capa superficial de células como proceso de renovación y regeneración (exfoliación), el epitelio vaginal se renueva aproximadamente cada ocho días, al desprenderse las células y descomponerse (autólisis celular), los lactobacillus presentes en la vagina degradan a su vez el glucógeno contenido en las mismas convirtiéndolo en glucosa y luego en ácido láctico, es este ácido el que, de forma principal,

determina el grado de acidez vaginal. En el proceso de exfoliación y regeneración se eliminan gran número de bacterias patógenas. El pH normal, oscila entre 3.8 y 4.4, este grado de acidez dificulta el desarrollo de otros microorganismos patógenos que precisan de un medio menos ácido para desarrollarse, para *Candida* un pH favorable se encuentra entre 5.5 – 6.8.³⁵

Los organismos patógenos también se nutren del glucógeno, especialmente esto es rigurosamente cierto si hablamos de los hongos y en particular de la *cándida*. También en este sentido es indispensable la presencia de los *Lactobacillus* vaginales (bacilos de Döderlein) ya que compiten fuertemente con los microorganismos dañinos no solo por el espacio, sino también por el alimento. Además los *Lactobacillus* segregan una serie de sustancias de acción antibiótica tales como el peróxido de hidrógeno, bacteriocinas, lactacidina, acidolina y lactacin B y algunas defensinas, entre otros, sustancias todas estas que actúan de forma sinérgica para suprimir ciertas bacterias o inhibir el desarrollo bacteriano. También los *Lactobacillus* se adhieren a determinados receptores de las células de la vagina, impidiendo así la adhesión por parte de otros microorganismos.³⁵

Como síntesis, la acción antimicrobiana de los bacilos de Döderlein se fundamenta en:

- Competencia por la adhesión a receptores (interferencia y coagregación)
- Competición por los nutrientes
- Producción de sustancias antimicrobianas. Limitándose su acción sólo a la mucosa.

Tanto las células desprendidas del epitelio vaginal, las bacterias muertas, como todos los subproductos del metabolismo de los organismos propios de la microbiota, secreciones diversas de las células epiteliales y demás, son arrastradas hacia el exterior por el flujo vaginal, cumpliendo así la función de escoba y manteniendo el medio interno limpio.³⁵

Otros elementos que forman parte activa y fundamental en la defensa de la mucosa vaginal son determinadas células inmunológicas, principalmente monocitos, células dendríticas (células de Langerhans), linfocitos y macrófagos, estas poblaciones forman la inmunología celular, y es parte fundamental en el control de las *cándidas*, de hecho, se pueden suponer problemas en la respuesta de estas células cuando existen candidiasis recurrentes. También, las células epiteliales, cuando se produce una infección, secretan citocinas, defensinas y

quimiocinas, sustancias que activan células inmunitarias específicas para luchar contra la infección.³⁵

La necesidad de un nivel de estrógenos correcto, de la integridad de la mucosa y de la presencia de una flora bacteriana compuesta por lactobacillus. Siendo estas unas de las claves fundamentales en la defensa e inmunidad vaginal y presentando relación de interdependencia entre ellas.³⁵

2.8. Cuadro clínico

Los signos y síntomas vaginales tienen un impacto significativo en la calidad de vida de las mujeres y en los sistemas de salubridad. La candidiasis vulvovaginal comprende un espectro que abarca los tipos de infección: agudo, recurrente o crónico.³³

La candidiasis vulvo vaginal aguda es la presentación clínica más usual y se caracteriza por prurito, dolor vaginal, ardor vulvar, dispareunia, disuria y olor levemente desagradable. En la exploración física se advierten eritema y edema vulvar, fisuras, lesiones papulo-pustulosas, placas amarillentas-blancas en las paredes de la vagina y cuello uterino y descarga vaginal que varía de acuosa a grumosa espesa (consistencia de requesón); el espectro clínico suele exacerbarse durante la semana previa a la menstruación. Se estima que hasta un 75% de las mujeres llega a experimentar dicho cuadro agudo al menos una vez en su vida.³³

La candidiasis vulvo vaginal recurrente se define como la presencia de al menos cuatro episodios al año, sintomáticos y documentados, con resolución de síntomas entre los episodios.³³

2.9. Antifúngicos

Los antifúngicos o antimicóticos son compuestos naturales o sintéticos que pueden producir modificaciones en estructuras básicas de la célula fúngica inhibiendo el desarrollo y alterando su viabilidad. En el caso de Candida, un adecuado tratamiento antifúngico debe considerar una eficiente cobertura para la especie de Candida identificada y un perfil de seguridad adecuado para el tipo de paciente tratado, dado que los antifúngicos presentan variados efectos adversos.²⁸ A diferencia de los antimicrobianos dirigidos a blancos bacterianos, los agentes antifúngicos son escasos debido a que muchos potenciales blancos terapéuticos son compartidos con la célula mamífera. Actualmente existen diversas familias de antifúngicos disponibles en el mercado cuyas diferencias radican en su estructura química y sus mecanismos de acción.²⁸

Los principales mecanismos de acción de los agentes antifúngicos son:

- Disrupción de la membrana celular (azoles y polienos).
- Inhibición de la formación de la pared celular (equinocandinas).

Los antifúngicos de elección más utilizados para tratar candidiasis hoy en día son los Azoles como alternativa de primera línea: butoconazol, clotrimazol, miconazol, voriconazol, fluconazol e itraconazol. El mecanismo de acción es la inhibición de la síntesis del ergosterol, al inhibir la conversión de lanosterol a ergosterol, produciendo cambios en la membrana celular del hongo. Este cambio estructural altera la permeabilidad celular y finalmente resulta en disrupción osmótica o inhibición del crecimiento de la célula fúngica. Adicionalmente, puede inhibir la síntesis de triglicéridos y fosfolípidos del hongo, así como la actividad de enzimas oxidativas y peroxidativas, lo que favorece la acumulación intracelular tóxica de peróxido de hidrógeno, que daña los organelos celulares y promueve la lisis fúngica.⁹

Fluconazol.- Es un medicamento triazol antimicótico usado en el tratamiento y prevención de infecciones fúngicas superficiales y sistémicas. Su mecanismo de acción se presenta por el efecto inhibitorio en la enzima 14- α desmetilasa, del citocromo P-450 con la consecuente disminución del ergosterol, que es un constituyente esencial de la membrana del hongo, como consecuencia se da una alteración de la membrana celular aumentando su permeabilidad, permitiendo así una pérdida de elementos esenciales como aminoácidos y potasio, además de impedir la receptación de precursores para otras moléculas de interés.³⁶

Voriconazol.- es un triazol de segunda generación derivado del fluconazol, pero con una potencia y espectro de actividad mayores. Molecularmente se diferencia por la sustitución de un anillo triazol por una fluoropirimidina, y por la adición de un grupo α -metilo en la cadena propílica que une el anillo triazol con la fluoropirimidina, lo que le confiere una mayor actividad. El voriconazol posee una buena actividad *in vitro* sobre las especies de Candida. Su mecanismo de acción es similar al del resto de los azoles, inhibe la síntesis de ergosterol mediante la inhibición de la 14 α -desmetilasa, enzima dependiente del citocromo P450. La falta de ergosterol debilita la integridad y la función de la membrana celular fúngica y, como resultado, se produce una acumulación de precursores del esterol, tóxicos para la célula, que contribuyen a la actividad antifúngica del fármaco.¹⁵

2.10. Resistencia

El término "resistencia" se usa para describir una insensibilidad relativa de un microbio a un fármaco antimicrobiano probado in vitro y comparado con otros aislados de la misma especie².

Por otro lado diversos autores postulan los mecanismos de resistencia antifúngica observada en *Candida spp.* como un proceso evolutivo, resultado de la exposición al fármaco, el mecanismo de acción y la eliminación incompleta de las levaduras por parte del mismo. Dejando claro, que el inicio de esta resistencia y su propagación, depende principalmente de los tipos de mutaciones que permitan a las especies de *Candida* evitar, eliminar o desactivar la droga.³⁰

El principal problema de los antifúngicos, al igual que del resto de los antibióticos, es la posibilidad de aparición de resistencias a los mismos por parte de los seres vivos objeto de su uso. En los hongos se reconocen tres formas diferentes de resistencia a los antifúngicos, y al menos una de ellas depende del contacto que hayan tenido previamente los hongos con las sustancias implicadas. Así, el uso de productos inadecuados, a la dosis inadecuada, o durante un período de tiempo demasiado corto, puede facilitar el cambio en las características del hongo y pasar de ser sensible a un antifúngico a resistente al mismo.³⁷

A partir de 1995, la Sociedad Americana de Microbiología (ASM en inglés) ha orientado la creación de sistemas de vigilancia para la aparición de resistencia a antimicrobianos. De allí se deriva la necesidad de hacer un uso prudente de los antimicóticos y en particular de los azoles, para determinar la frecuencia de la resistencia y así guiar los programas de control del uso de antimicóticos y delimitación de la progresión de la resistencia. De todas las infecciones micóticas sistémicas, es la candidiasis la que cobra mayor importancia por su frecuencia y hacia la cual se dirigen grandes esfuerzos en los programas de vigilancia.³⁸

Las resistencias se clasifican en:²⁸

- a) Resistencia intrínseca o innata:** Todas las cepas de una misma especie presentan resistencia ejemplo *C. krusei* es intrínsecamente resistente a fluconazol.
- b) Resistencia primaria:** Algunas cepas de una especie normalmente sensible pueden presentar resistencia sin haber tenido contacto previo con el antifúngico.

c) Resistencia secundaria o adquirida: Cepas previamente sensibles adquieren resistencia tras tener contacto con un agente antifúngico.²⁸

Otros autores indican que la resistencia es un cambio de sensibilidad o susceptibilidad al antifúngico que puede medirse *in vitro* por métodos de laboratorio apropiados. Los mecanismos de resistencia antifúngica se clasifican en dos categorías.^{39,2}

- **La resistencia microbiológica:** Se define como el crecimiento del microorganismo a dosis normales del antifúngico, sin embargo, éste puede ser inhibido a una concentración más alta.^{39,2}
- **La resistencia clínica:** Se define como el crecimiento del microorganismo a pesar de la administración de un agente antifúngico lo que esto se asocia con una alta probabilidad de falla terapéutica. En otras palabras el patógeno no se puede inhibir a dosificaciones normales pero si a concentraciones más altas las cuales podrían ser no seguras para el paciente.^{39,2}

La determinación de la susceptibilidad a fármacos de la cepa de *Candida spp.* es fundamental para el establecimiento del tratamiento adecuado, porque existen cepas específicas que son intrínsecamente resistentes a los azoles; por ello, el conocimiento de la sensibilidad a cada grupo de fármacos antifúngicos de la cepa de *Candida spp.* puede repercutir en la toma de decisiones con respecto al tratamiento y pronóstico.³⁹

En el M44-A del El Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), se consignan los puntos de corte establecidos para los discos de Fluconazol (25ug) y Voriconazol (1ug), utilizados con *Candida spp.*^{25, 40}

Tabla 1. Puntos de corte para fluconazol y voriconazol en (mm) por el Método de Difusión en Disco.⁴¹

Antifúngicos	Carga del Disco	Diámetro del halo (mm)		
		Sensible	S-DD	Resistente
Fluconazol	25 µg	≥ 19	15 - 18	≤ 14
Voriconazol	1 µg	≥ 17	14 - 16	≤ 13

S, sensible. S-DD, sensible dependiendo de la dosis. R, resistente.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de estudio

El presente trabajo de investigación se realizó en el Área de Micología del Laboratorio Referencial de la Dirección Regional de Salud Ayacucho, ubicado en el distrito de Ayacucho, provincia de Huamanga de la región de Ayacucho, durante el periodo comprendido entre diciembre de 2017 y marzo de 2018.

3.2. Diseño de estudio

Descriptivo

3.3. Definición de población y muestra

Población

Estuvo conformada por 110 cepas de Candida aisladas durante los meses de diciembre de 2017 a marzo de 2018.

Muestra

Estuvo constituido por 14 cepas de Candida resistentes y sensibles dosis dependientes.

Criterios de inclusión

- Cepas resistentes y sensibles dosis dependientes a Fluconazol y Voriconazol.

Criterios de exclusión

- Cepas sensibles a Fluconazol y Voriconazol.

3.4. Toma y transporte de muestra.

Las muestras fueron tomadas del Laboratorio del Hospital Regional "Miguel Ángel Mariscal Llerena" de Ayacucho, provenientes de pacientes con candidiasis vaginal, las muestras fueron transportadas para su tipificación y susceptibilidad antifúngica por el método Difusión en Disco en el al Área de Micología del Laboratorio de Referencia Regional Ayacucho y para determinar la Concentración Mínima Inhibitoria de cepas resistentes y sensibles dosis dependientes se realizó en el Instituto Nacional de Salud.

3.5. Consideraciones éticas

En este estudio se trabajó con aislados de levaduras y no directamente con pacientes. Los datos clínicos y resultados de los pacientes fueron mantenidos en forma confidencial. Las levaduras fueron codificadas y solo los investigadores tuvieron acceso a los datos de los pacientes. No hubo un beneficio directo para el paciente, pero al conocer la frecuencia de especies y la susceptibilidad a los antifúngicos se espera un mejor manejo terapéutico de estas micosis.

3.6. Procedimiento para la identificación de especies de Candida.^{40,41} **(Realizado en el Laboratorio de Referencia Regional de Ayacucho)**

3.6.1. Examen directo⁴¹

- Se dispensó una gota de KOH 10% al centro de lámina portaobjeto.
- Se agregó una porción de muestra con el hisopo, sobre la gota de KOH 10%.
- Se cubrió con una lámina cubre objetos y se observó al microscopio con los objetivos de 10x y 40x.
- Se observaron células redondeadas u ovaladas de tres a siete micras de diámetro, así mismo se pueden observar pseudomicelios en algunas especies.

3.6.2. Aislamiento de levaduras⁴⁰

- Con el hisopo que contenía la secreción vaginal, se colocó una gota de muestra en un extremo de la placa Petri con Agar Sabouraud Glucosado más cloranfenicol, se sembró con el asa de siembra mediante el método de agotamiento en superficie.
- Se incubó a una temperatura de 37° C por 24 a 48h.
- Se realizó el examen macroscópico de los cultivos.

3.6.3. Morfología de las colonias

Se reconoció por la característica de presentar colonias cremosas de color blanco amarillento, lustroso, poco elevado y de bordes bien definidos.

3.6.4. Prueba del tubo germinativo⁴⁰

- Se realizó una suspensión con un inóculo de la cepa de Candida con 24 horas de desarrollo en 0,5 mL de suero humano.
- Se incubó a 37°C por 2h y 30 min.
- Se colocaron 2 a 3 gotas de la suspensión en una lámina porta objetos y se cubrió con una lámina cubre objetos.
- Se realizó la lectura al microscopio con objetivos de 10x y 40x.

- Se consideró como positivo una estructura elongada o alargada (tubo germinativo) que se origina a partir de la levadura.
- Se realizó esta prueba empleando cepas controles en paralelo a la cepa de estudio.

Control positivo: *C. albicans*

Control negativo: *C. glabrata*

3.6.5. Producción de Clamidosporas⁴⁰

- Se realizó la siembra de la cepa mediante estrías en paralelo sobre el Agar Arroz contenida en placas de Petri.
- Se colocó una lámina cubre objeto estéril sobre cada inóculo sembrado.
- Se incubó a temperatura ambiente por un lapso de 3 a 5 días.
- Se colocó la placa Petri al microscópico y sin retirar la lámina cubre objetos, se observó al microscopio con objetivos a 10x y 40X.
- Se consideró como positivo la visualización de estructuras redondas u ovales de pared gruesa, con aspecto de esporas laterales o terminales (clamidoconidios con pseudomicelios y blastoconidias).

3.6.6. Susceptibilidad a cicloheximida⁴⁰

- Permite distinguir aquellas levaduras que son resistentes o sensibles a la Cicloheximida.
- A partir de un cultivo de 24 h. en Agar Sabouraud, se sembró en Agar Mycosel en terminación en pico de flauta.
- Se incubó a temperatura ambiente por tres días.
- Cepas que se desarrollaron sobre el medio de cultivo se consideraron resistentes.

3.6.7. Formación de película⁴⁰

- Algunas especies de Candida producen una película y gas sobre la superficie del medio de cultivo (Caldo Sabouraud).
- Se inoculó una asada de la colonia de levadura, en un tubo que contenía Caldo Sabouraud.
- Se incubó a temperatura ambiente por tres días.

3.6.8. Asimilación de carbohidratos⁴⁰

- Se inoculó una asada de la cepa de Candida en estrías sobre la superficie del Medio Base Carbohidrato (glucosa, lactosa, sacarosa, maltosa, galactosa y rafinosa).
- Se incubó a temperatura ambiente por 2 a 3 días.

- Se consideró positivo al observar en la reacción del viraje del color lila a amarillo.

3.6.9. Prueba de la ureasa⁴⁰

- Se inoculó una asada de la cepa de *Candida* en estría en la superficie del Medio Base Urea.
- Se incubó a temperatura ambiente por 2 a 3 días o a 37 °C por 6h.
- La reacción se consideró positiva cuando se alcalinizó el medio, lo que produce un cambio del color original (amarillo) a rosa o rojo.

3.6.10. Identificación bioquímica enzimática^{40,41}

- Se sembró la cepa en estrías en la superficie de Chrom Agar.
- Se incubó a 30 - 37°C por 24 a 48 h.
- Se consideró positiva para *C. albicans*, cuando las colonias son lisas y de color verde esmeralda, *C. dubliniensis*, colonias de color verde oscuro, *C. tropicalis* colonia de color azul oscuro con un halo púrpura marrón en el medio.

3.7. Difusión en Discos para la determinación de susceptibilidad antifúngica de hongos levaduriforme *Candida spp.*⁴¹

3.7.1. Preparación del inóculo y siembra⁴¹

- A partir de un cultivo puro de 24 horas de incubación a 37°C, se tomó con la punta del asa de siembra la cepa y se la resuspendió en un tubo con 5mL de Solución Salina estéril.
- Se homogenizó y se ajustó a una turbidez de 0,5 en la escala Mac Farland (equivalentes a 1×10^6 - 5×10^6 UFC/mL).
- Se colocó un hisopo estéril dentro del tubo que contenía la suspensión del inóculo y se dio movimientos rotatorios al hisopo contra las paredes del tubo para eliminar el exceso de líquido.
- Se sembró cuidadosamente (sin presionar el hisopo) en una placa de Mueller Hinton en tres direcciones, para obtener crecimiento uniforme en toda la superficie.
- Se colocó la placa con la tapa hacia arriba a temperatura ambiente durante 10-15 minutos.

3.7.2. Colocación de los discos e incubación.⁴¹

- Se dejó a temperatura ambiente el cartucho de discos durante 5-10 minutos.
- Se extrajo el antifúngico en disco del cartucho con una pinza estéril de punta fina.

- Se colocó el disco en la superficie del agar previamente inoculada y se presionó suavemente en el centro del disco con la punta de la pinza.
- Seguidamente se colocó los discos a 20 mm del borde de la placa, y separados entre sí por 40 mm de distancia.
- Posteriormente se dejó la placa con la tapa hacia arriba a temperatura ambiente durante 10 minutos antes de ser colocadas en la incubadora.
- Se colocó la placa invertida en la incubadora a 37°C durante 24 horas.
- Se midió el diámetro de los halos externos de inhibición con una regla.

3.8. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria.⁴² **(Procedimiento realizado en el Instituto Nacional de Salud)**

Esta técnica cuantitativa, tiene como principio el probar la inhibición de crecimiento de un inóculo de levadura, a concentraciones definidas de una droga específica, para así poder determinar la menor concentración de la droga capaz de inhibir el crecimiento de la levadura, conocido como Concentración Mínima Inhibitoria (CMI).⁴²

Se realizó la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de fluconazol y voriconazol para la identificación cepas resistentes por el método de Microdilución.

3.8.1. Diluciones de los agentes antifúngicos.⁴²

Se pesó el polvo del antifúngico en una balanza analítica y se diluyó en 10 mL dimetilsulfóxido (DMSO) a una concentración de 12,8 mg/mL para fluconazol y voriconazol a una concentración de 1,6 mg/mL.

ANTIFÚNGICO	PESO (mg)	VOLUMEN (mL)	CONCENTRACIÓN (mg/mL)
Fluconazol	128	10	12,8
Voriconazol	16	10	1,6

3.8.2. Preparación de las diluciones seriadas del antifúngico.⁴²

A partir de la solución madre (rotulado como tubo N°1) se realizaron 9 diluciones consecutivas 1:2 para ello se procedió de la siguiente manera:

- Se enumeraron 9 tubos dilutores del 2 al 10.
- Se cargaron a los tubos dilutores con 500 µL del solvente de dilución (DMSO) para fluconazol y voriconazol.
- Se tomó 500 µL de solución madre (tubo N° 1) y se homogenizó y traspasó al tubo N° 2, seguidamente se tomó 500 µL de este tubo (N° 2) y se agregó al N° 3, y así sucesivamente hasta el tubo N° 10.

- Después de la dilución se obtuvo 10 tubos de cada antifúngico con las siguientes concentraciones.

ANTIFÚNGICOS	Intervalo de concentraciones mg/L	
	Mayor	Menor
FLUCONAZOL	12,800	25
VORICONAZOL	1,600	3

3.8.3. Preparación de las diluciones para cargar en las Microplacas.⁴²

Para este proceso se utilizaron las diluciones seriadas de cada antifúngico. Se inocularon las placas con cada antifúngico.

- Se tomaron diez tubos de vidrio con 9.8 mL de RPMI y se rotularon del 1 al 10.
- Se realizó una dilución 1/50 de la serie de antifúngicos preparados anteriormente. Para esto se tomó 200 µL del tubo N°10 con antifúngico al tubo N° 10 con RPMI, luego 200 µL del tubo N° 9 con antifúngico al tubo N° 9 con RPMI, y se continúa de esta forma hasta el tubo N° 1.
- Se obtuvieron los siguientes intervalos de concentraciones de los antifúngicos.

ANTIFÚNGICOS	INTERVALO DE CONCENTRACIONES mg/L	
	Mayor	Menor
FLUCONAZOL	256	0,5
VORICONAZOL	32	0,06

3.8.4. Carga de las microplacas.⁴²

Se usaron placas de cultivo celular estériles con 96 pocillos de fondo plano con tapa. Se rotularon las placas con el nombre del antifúngico cargado. La carga se realizó por columnas, de modo que los pocillos de cada fila se cargaron con la misma concentración de antifúngico en forma simultánea.

- **Llenado de las columnas 1 al 10:** De cada contenido de los tubos preparados para cargar las microplacas, se trasvasó en una cubeta de plástico estéril y con ayuda de una micropipeta de 8 canales se cargaron 100 µL del contenido y se depositaron en la columna respectiva.
- En la columna 10 de la microplaca se cargó 100 µL por pocillo de la dilución 10 (tubo N° 10) y así sucesivamente hasta llegar a la dilución 1 (tubo N° 1).
- **Llenado de las columnas 11 y 12:** En una cubeta de plástico estéril se colocó 10 mL de RPMI con 200 µL de DMSO, con ayuda de una micropipeta multicanal se cargó 100 µL para cada pocillo en la columna 11 de la

microplaca para el control de crecimiento y en la columna 12 se cargó 200 μ L del mismo modo para el control de esterilidad.

3.8.5. Preparación del inóculo.⁴²

- Se utilizaron cultivos de 24 horas de crecimiento en Agar Sabouraud Dextrosa a 37°C.
- Se tomaron 8 tubos con 5 mL de Solución Salina Estéril (SSE) y se rotularon de la “A” hasta la “H”.
- Se tomó el inóculo (de 3 a 5 colonias) de la cepa “A” y se resuspendió en el tubo “A”.
- La solución obtenida se homogenizó en un vórtex y se ajustó a la escala 0,5 de Mc Farland (equivale a 1×10^6 a 5×10^6 UFC/mL), del mismo modo se prosiguió con las demás cepas a evaluar.
- Se tomaron 8 tubos con 5 mL de Solución Salina y se rotularon de “A2” hasta “H2”.
- Seguidamente se tomó 100 μ L del tubo “A” y se traspasó al tubo “A2” (dilución 1/50 en SSF), se homogenizó en el vortex y se siguió el mismo procedimiento con las demás cepas.
- Por otro lado se usaron 8 tubos con 9.5 mL de RPMI y se rotularon de “A3” hasta “H3”.
- Posteriormente se tomó 500 μ L del tubo “A2” y se traspasó al tubo “A3” (dilución 1/20 en RPMI), la cual corresponde a un inóculo de 1×10^3 UFC/mL y se siguió el mismo procedimiento para las demás cepas y se mantuvieron los tubos en hielo.

3.8.6. Inoculación en las placas.⁴²

- Se tomó el tubo “A3”, se agitó en el vortex para homogenizar y se vertió el contenido en una cubeta estéril.
- Se utilizó la pipeta multicanal y se dispensó 100 μ L del inóculo en los 11 pocillos de la primera fila (fila A) de la microplaca (de tal modo que la cepa del tubo “A3” ocupó la fila “A” de la microplaca) y se siguió el mismo proceso de tal manera que cada cepa ocupó cada fila de la microplaca.
- Y para la columna 12 se dispensó a cada pocillo 200 μ L de RPMI la cual sirvió para el control de esterilidad del medio.

3.8.7. Incubación

Se incubó a 37 °C en una bandeja en cámara húmeda durante 48 horas.

3.8.8. Lectura de la Mínima Concentración Inhibitoria.⁴²

- El M27-A3 del CLSI recomienda la lectura visual
- Se realizó la lectura con ayuda de una luz de lámpara, y se le asignó a cada pocillo un valor de 0 a 4 y se tomó como guía la siguiente escala y como referencia se tomó el pocillo de control de crecimiento.
 - 0** : Ópticamente claro
 - 1** : Ligeramente turbio
 - 2** : Considerable reducción de la turbidez
 - 3** : Pequeña reducción de la turbidez
 - 4** : sin reducción de la turbidez
- Para los azoles se describe como la Mínima Concentración Inhibitoria en la cual se observa un puntaje de 2.
- La susceptibilidad de las cepas frente a cada droga fue clasificada como sensible (S), sensible dosis dependiente (SDD) y resistente (R), según se observa en la tabla.
- El control de calidad fue realizado con cepas controles, con CIM conocidas frente a los antifúngicos probados *C. parapsilosis* ATCC 22019 y *C. krusei* ATCC 6258.

Tabla 2. Intervalo de la CMI de los antifúngicos para las cepas control de calidad, obtenidas por el Método de Microdilución M27-A3.⁴²

ANTIFÚNGICO	Intervalos de las CMI (µg/mL)			
	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019		<i>C. krusei</i> ATCC 6258	
	24 HORAS	48 HORAS	24 HORAS	48 HORAS
FLUCONAZOL	0,5 - 4	1 - 4	8 - 64	16 - 128
VORICONAZOL	0,016 – 0,12	0,03 – 0,25	0,06 – 0,5	0,12 - 1

Tabla 3. Puntos de corte según NCCLS en CMI (µg/mL) para fluconazol y voriconazol por el método M27-A3.⁴²

ANTIFÚNGICOS	INTERVALOS DE LAS CMI (µg/mL)		
	SENSIBLE	S-DD	RESISTENTE
Fluconazol	≤ 8	16 - 32	≥ 64
Voriconazol	≤ 1	2	≥ 4

IV. RESULTADOS

Tabla 4. Frecuencia de especies de *Candida* aisladas de pacientes con candidiasis vaginal, Ayacucho 2017.

Especie de Candida	N	Porcentaje %
<i>Candida albicans</i>	95	86,4
<i>Candida glabrata</i>	10	9,1
<i>Candida parapsilosis</i>	3	2,7
<i>Candida tropicalis</i>	1	0,9
<i>Candida krusei</i>	1	0,9
TOTAL	110	100

Leyenda:

N : Número de cepas aisladas

Tabla 5. Susceptibilidad antifúngica a Fluconazol de especies de Candida, Ayacucho 2017.

Susceptibilidad a Fluconazol								
Espece de Candida	Sensible		SDD		Resistente		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Candida albicans</i>	85	89,5	4	4,2	6	6,3	95	100
<i>Candida glabrata</i>	7	70	2	20	1	10	10	100
<i>Candida parapsilosis</i>	3	100	0	0	0	0	3	100
<i>Candida tropicalis</i>	1	100	0	0	0	0	1	100
<i>Candida krusei</i>	0	0	0	0	1	100	1	100
TOTAL	96		6		8		110	

Leyenda:

N : Número de cepas aisladas

SDD : Sensible dosis dependiente

Tabla 6. Susceptibilidad antifúngica a Voriconazol de especies de Candida, Ayacucho 2017.

Susceptibilidad a Voriconazol								
Especie de Candida	Sensible		SDD		Resistente		TOTAL	
	N	%	N	%	N	%	N	%
<i>Candida albicans</i>	89	93,7	3	3,2	3	3,2	95	100
<i>Candida glabrata</i>	10	100	0	0	0	0	10	100
<i>Candida parapsilosis</i>	3	100	0	0	0	0	3	100
<i>Candida tropicalis</i>	1	100	0	0	0	0	1	100
<i>Candida krusei</i>	1	100	0	0	0	0	1	100
TOTAL	104		3		3		110	

Leyenda:

N : Número de cepas aisladas

SDD : Sensible dosis dependiente

Tabla 7. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria ($\mu\text{g/mL}$) de especies de *Candida* resistentes y sensibles dosis dependientes a Fluconazol y Voriconazol, Ayacucho 2017.

CEPAS	RESULTADO ($\mu\text{g/mL}$)		INTERPRETACIÓN	
	FLUCONAZOL	VORICONAZOL	FLUCONAZOL	VORICONAZOL
<i>C. albicans</i> Cepa 01	>128	>16	R	R
<i>C. albicans</i> Cepa 02	>128	>16	R	R
<i>C. albicans</i> Cepa 03	>128	>16	R	R
<i>C. albicans</i> Cepa 04	>128	>16	R	R
<i>C. albicans</i> Cepa 05	>128	>16	R	R
<i>C. albicans</i> Cepa 06	>128	>16	R	R
<i>C. albicans</i> Cepa 07	>128	>16	R	R
<i>C. albicans</i> Cepa 08	>128	>16	R	R
<i>C. albicans</i> Cepa 09	>128	>16	R	R
<i>C. albicans</i> Cepa 10	>128	>16	R	R
<i>C. glabrata</i> Cepa 11	16-32	0,5	S-DD	S
<i>C. glabrata</i> Cepa 12	16	0,25	S-DD	S
<i>C. glabrata</i> Cepa 13	16	0,5	S-DD	S
<i>C. krusei</i> Cepa 14	>128	0,25	R	S
<i>C. parapsilosis</i> Cepa 15	4	0,25	S	S
<i>C. tropicalis</i> Cepa 16	0,5	0,13	S	S

Leyenda:

S : Sensible
SDD : Sensible dosis dependiente
R : Resistentes

V. DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se aisló un total de 110 cepas de levaduras del género *Candida* a partir de secreciones vaginales, en la **tabla 4**, muestra que la especie más frecuente fue *Candida albicans* en un 86,4%, seguida de *Candida glabrata* 9,1%, *Candida parapsilosis* 2,7%, *Candida tropicalis* 0,9% y *Candida krusei* 0,9%.

Esta proporción coincide con los estudios de Arechavala¹⁴ en Argentina, donde demostró que el 86% de las cepas aisladas correspondía a *C. albicans*, el 6% a *C. glabrata*, y el resto se identificaron como *Candida inconspicua* (3%), *Candida krusei* (2%), de la misma forma los datos obtenidos por Díaz⁵ en Chile, a partir de 145 aislamientos confirmaron que *C. albicans* fue el principal agente etiológico involucrado de la candidiasis vaginal, con una frecuencia del 86,9%, seguido por *C. glabrata* (11%), *C. parapsilosis* (1,37%) y *C. tropicalis* (0,68%).

Azzam¹⁸ en Venezuela a partir de 200 pacientes evaluadas con vulvovaginitis; *Candida spp* representó el 84,2% (n=48) de los casos y *Trichomonas vaginalis* el 14% (n=8) y el grupo etario predominante correspondió de 25-35 años, *C. albicans* fue la más frecuentemente aislada (87,5%; n = 42); *C. glabrata* representó el 10,42% (n=5) y *C. guilliermondii* el 2,08% (n=1), resultados que coinciden con nuestro trabajo.

Macilla²² en Huamanga realizó la identificación de especies de *Candida* en 101 muestras, y la frecuencia fue la siguiente, *C. albicans* 81,2% (82/101), seguida por *C. glabrata* 15,8% (16/101) y *C. dubliniensis* 1% *C. parapsilosis* 1% y *C. lusitanae* 1% (1/101) respectivamente. La frecuencia de *C. albicans* es similar a nuestros resultados (86,4%), como también coincide con *C. glabrata* como la segunda especie más aislada 10% este hecho se explica porque *Candida albicans* presenta carácter dimórfico y una alta capacidad patogénica, lo que permite una rápida colonización de la mucosa vaginal.

Perrurena.⁶ en Cuba, apartir de 28 aislados vaginales de *Candida*, Las especies identificadas fueron *C. albicans* (16), *C. glabrata* (5), *C. krusei* (2), *C. parapsilosis* (2), *C. tropicalis* (1), *C. inconspicua* (1) y *C. lusitaniae* (1). Estos resultados son muy parecidos a los nuestros, respecto a *Candida tropicalis* y *C. parapsilosis* que fueron las especies menos aisladas.

Muñoz.²⁰ En Trujillo, reportó que *C. albicans* (60%) es la especie de mayor frecuencia seguido de *C. tropicalis* (19%), *C. glabrata* (7%), *C. krusei* (7%), *C. guilliermondi* (5%) y *C. parapsilosis* (2%). Estos resultados difieren con nuestros resultados con respecto a *Candida tropicalis* que fue la segunda especie más aislada en esta investigación, esto se debe por las condiciones geográficas y la distinta población en estudio.

Ríos, C. y Rodríguez, M.³⁴ Lima indican que el principal agente etiológico de la candidiasis vaginal es *Candida albicans*, ya que ésta causa entre un 80%-85% de las infecciones, mientras que las especies de *Candida* no-*albicans* causan entre el 5%-20% de los casos. En base a los resultados obtenidos en este estudio, se puede concluir que existe una amplia variedad de especies de *Candida*, siendo

C. albicans la más frecuente, seguida por *C. glabrata*; hallazgos que coinciden ampliamente con lo reportado en estudios realizados con aislamientos en otros países.

En la tabla 5 y 6, podemos observar que *Candida albicans* está mostrando menor sensibilidad a los antifúngicos de fluconazol y voriconazol, se encontró 4,2% de cepas dosis dependiente y 6,3% cepas resistentes a fluconazol mientras para voriconazol se encontró 3,2% de cepas dosis dependiente y 3,2% de resistentes; con respecto a *Candida glabrata* se encontró cepas dosis dependiente en un 20% y resistentes 10% a fluconazol a diferencia de voriconazol donde mostraron sensibilidad, las especies de *Candida parapsilosis* y *Candida tropicalis* mostraron sensibilidad para ambos antifungicos; la única especie encontrada *Candida krusei* mostró resistencia a fluconazol en un 100% y sensibilidad a voriconazol, esto se explica a qué *C. krusei* presenta una resistencia natural a fluconazol.

Mancilla²² en Huamanga, determinó el patrón antifúngico de especies de *Candida* el cual fue 85,1% sensible al voriconazol, 73,3% al fluconazol y 60,4% a nistatina; el antifúngico que presentó mayor resistencia fue fluconazol con 15,9% seguida de voriconazol con 12 ,2%; y nistatina con 3,7%. Estos resultados

concuerdan con los nuestros donde las cepas de *Candida* muestran menor sensibilidad al fluconazol y voriconazol, cabe señalar que la sensibilidad a este grupo de fármacos ha ido disminuyendo debido a la comercialización y el uso intensivo de azoles, especialmente del Fluconazol.

Nuestros resultados coinciden con lo descrito por Chillogallo⁷ en Venezuela, donde destaca que el 30,4%(7/23) de *Candida albicans* son resistentes a fluconazol como también el 100% (8/8) de *Candida krusei*; situación que obedece a la resistencia natural de *C. krusei* al antimicótico probado además menciona que la presencia de candidiasis vulvovaginal recurente es un factor que se correlaciona a la resistencia a fluconazol y que en la etapa de fertilidad 21 a 44 años las mujeres pueden ser más susceptibles a estas infecciones.

Se hace necesario un estudio posterior de carácter clínico que permita dar respuesta a interrogantes en torno a la aparición de fenómenos de resistencia relacionados con fenómenos de re-infección, recidiva o la existencia de un tratamiento previo con alguno de estos antifúngicos⁵. Asimismo, encontramos un cambio del patrón etiológico de la candidemia, a pesar de continuar presentándose *Candida albicans* como la especie más frecuente, su prevalencia ha disminuido drásticamente, lo que da lugar a un aumento de las *Candida* no *albicans*⁴³. Estas especies no *albicans* generan dificultades terapéuticas, emergiendo con ellas nuevos patrones de sensibilidad a los antifúngicos⁴³.

En la tabla 7, muestra los resultados de la Concentración Mínima Inhibitoria (CIM) de 14 cepas de *Candida* resistentes y sensibles dosis dependientes a fluconazol y voriconazol evaluadas previamente por el método de Difusión en Disco. Para determinar la CMI se utilizó la técnica de Microdilución en el Instituto Nacional de Salud y para validar el procedimiento se utilizó cepas controles ATCC cuyas CIM son conocidas para los antifúngicos de fluconazol y voriconazol mostrando así que las cepas evaluadas por este último método, se obtuvo un total de cepas resistentes para *C. albicans* (10/95) a fluconazol con CMI ≥ 128 $\mu\text{g/mL}$, y para voriconazol (10/95) con CMI ≥ 16 $\mu\text{g/mL}$; *C. glabrata* se le categorizó como S-DD (3/9) para fluconazol con un CIM=16-32 $\mu\text{g/mL}$ y para voriconazol mostraron sensibilidad con CMI = 0,25 - 0,5 $\mu\text{g/mL}$; *Candida krusei* es la especie que presenta resistencia natural a fluconazol con CMI ≥ 128 $\mu\text{g/mL}$ y sensibilidad para voriconazol con CMI = 0,25 $\mu\text{g/mL}$; por otro lado *Candida parapsilosis* y *C. tropicalis* fueron sensibles a ambos antifungicos. Díaz⁵, hace mención que la aparición de resistencia en aislamientos de *C.*

albicans a fluconazol, que es el tratamiento de elección en pacientes con candidiasis vulvovaginal puede constituir un problema a la vez que especies distintas a *C. albicans* aisladas presentan resistencia natural a fluconazol, esto coincide con lo reportado en un estudio de candidiasis vulvovaginal por Perrurena⁶ en Cuba, a partir de los 16 aislados de *C. albicans* (100%) fue sensible a la anfotericina B, todas con CMI $\leq 0,5$ mg/L, concentración inferior al valor de corte que se sugiere para considerar como resistente a los aislados de las diferentes especies de *Candida* (CMI ≥ 2 mg/L), según normativas del CLSI para este antifúngico, dos de los aislados de *C. albicans* mostraron resistencia al fluconazol con CMI ≥ 128 mg/L (12,5 %), dos al itraconazol con una CMI ≥ 4 mg/L (12,5 %), mientras que para el voriconazol un aislado (6,25 %) con una CMI ≥ 8 mg/L. Sin embargo, el comportamiento de los aislados de *C. glabrata* para itraconazol y fluconazol fue variable, de los cinco aislados, uno (20 %) resultó con dosis dependiente (CMI de 16 mg/L) frente al fluconazol, y para el itraconazol uno mostró dosis dependiente (CMI de 0,25 mg/L) y tres (60 %) resultaron resistentes (CMI ≥ 1 mg/L). Por otra parte todos los aislados de *C. krusei* y *C. glabrata* resultaron sensibles al voriconazol, datos que concuerdan con nuestros resultados.

Debemos señalar que el uso indiscriminado del tratamiento con estas drogas, puede ejercer una presión selectiva incrementado la resistencia de *C. albicans* a estos antifúngicos. El hecho de que en este estudio, las especies menos comunes de *Candida* presenten una disminución en la susceptibilidad al fluconazol y en algunas al voriconazol, es importante pues éstas emergen como resultado de la terapia con azoles a que son sometidos los pacientes, lo cual genera resistencia.¹

Otros estudios enfatizan la naturaleza fungistática del fluconazol, lo cual, en cierto modo, explica la resistencia de algunas cepas a este agente⁴. La acción fungistática depende de varios factores como son la densidad celular y el pH de la vagina, los cuales garantizan la efectividad en la acción del referido fármaco⁴. Un incremento de otras especies de *Candida* se reporta como agentes etiológicos de la candidiasis vulvovaginal recurrente. La segunda especie más aislada en este estudio fue *C. glabrata* (9,1 %), esta especie genera dificultades terapéuticas debido a la emergencia de nuevos patrones de susceptibilidad a los antifúngicos.

En el Perú el INS ha estandarizado el método de referencia del CLSI utilizando la

microdilución en caldo y ha transferido a la red nacional de laboratorios de micología, el método de difusión en disco del CLSI para fluconazol y voriconazol, estos son utilizados en algunos hospitales nacionales de alta complejidad, ubicados en Lima⁴³.

La actualización en el conocimiento acerca de las especies de *Candida* causantes de candidiasis vaginal y su susceptibilidad es de vital importancia para orientar al personal de salud en la terapéutica de esta afección. A pesar de que *C. albicans* continúa siendo la levadura más aislada como agente causal de las vulvovaginitis, los resultados de este estudio, aunque de forma preliminar, avizoran sobre un fenómeno emergente que sugiere una asociación cada vez más estrecha entre especies diferentes de *C. albicans* y los cuadros de candidiasis vulvovaginal, y alertan sobre el ligero incremento de la resistencia a los azoles⁶.

VI. CONCLUSIONES

- A partir de las 110 cepas aisladas de *Candida* se identificó *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*.
- La especie más frecuente fue *Candida albicans* en un 86,4%, seguida de *Candida glabrata* 9,1%, *Candida parapsilosis* 2,7%, *Candida tropicalis* 0,9% y *Candida krusei* 0,9%.
- Se encontró cepas de *C. albicans* SDD 4,2% y resistentes 6,3% a fluconazol mientras para voriconazol se encontró 3,2% SDD y 3,2% de resistentes; con respecto a *C. glabrata* se encontró cepas SDD un 20% y resistentes 10% a fluconazol a diferencia de voriconazol donde mostraron sensibilidad, las especies de *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* mostraron sensibilidad para ambos antifungicos; *C. krusei* mostró resistencia a fluconazol en un 100% y sensibilidad a voriconazol.
- Se encontró un total de cepas resistentes para *C. albicans* (10/95) a fluconazol con CMI ≥ 128 $\mu\text{g/mL}$ y para voriconazol (10/95) con CMI ≥ 16 $\mu\text{g/mL}$; *C. glabrata* se le categorizó como S-DD (3/9) para fluconazol con un CIM =16-32 $\mu\text{g/mL}$ mientras para voriconazol mostraron sensibilidad con CMI= 0,25 - 0,5 $\mu\text{g/mL}$ y *Candida krusei* fue resistente para fluconazol con CMI ≥ 128 $\mu\text{g/mL}$ y mostró sensibilidad a voriconazol con CMI = 0,25 $\mu\text{g/mL}$.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios sobre los genes de resistencia de Candida a los antifúngicos.
- Realizar estudios similares ampliando las variables de población y lugares de estudio, con el fin de contar con un perfil epidemiológico confiable que permita estandarizar tratamientos empíricos de acuerdo a nuestra realidad.

VIII. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

1. Pineda, J.; Cortés, A.; Uribarren, J.; Castañón, L. Candidiasis vaginal: Revisión de la literatura y situación de México y otros países latinoamericanos. Revista médica Risaralda [Internet]. [cited 2018 Sep. 13]; 23(1): 38-44. Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0122-06672017000100009&lng=en
2. Loeffler, J.; Stevens, D. Resistencia a los medicamentos antimicóticos. Enfermedades infecciosas clínicas. [Internet] 2003 enero 15. [acceso 14 de noviembre 2017]; Volumen 36, Edición complementaria_1, páginas 31-41. Disponible en: <https://doi.org/10.1086/344658>
3. Panizzo, M.; Pérez, C.; Maniscalchi, M. Susceptibilidad *in vitro* a los antifúngicos de *Candida sp.* y serotipos de *Candida albicans* aisladas de pacientes con vaginitis primaria y recurrente. Rev. Soc. Venez. Microbiol 2005; 20(1): 16-21
4. Tapia, C.; Antifúngicos y resistencia. Revista chilena infectol [Internet] 2012 junio. [acceso 14 de noviembre 2017]; vol.29. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0716-10182012000300020>
5. Díaz, M.; Camponovo, R.; Araya, I.; Cerda, A.; Santander, M.; Carrillo, A. Identificación y sensibilidad antifúngica *in vitro* de *Candida spp.* de origen vaginal a fluconazol, clotrimazol y nistatina. Rev. Sociedad Española de Quioterapia 2016;29(3):151–154.
6. Perrurena, M.; Muñoz, Y.; Fernández, C.; Martínez, G.; Teresa, M. Susceptibilidad antifúngica de aislados vaginales de *Candida spp.* Revista Cubana de Medicina Tropical. [Internet]. 2016 Dic [citado 2018 Ago. 28]; 68(3): 248-254. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0375-07602016000300007&lng=es.
7. Chillogallo, C. “Especies de candida y su resistencia a fluconazol en muestras de secreción vaginal de mujeres embarazadas atendidas en el Centro de Salud N°1 de La Ciudad De Loja. [Tesis] Ecuador. Universidad Nacional De Loja 2015.
8. Lemus, D.; Villarroel, O.; Maniscalchi, M. *Candida spp.* Aisladas En Pacientes Con Vulvovaginitis De Comunidades Rurales Del Municipio Caripe, Estado Monagas, Venezuela, 2014. SABER. Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente [Internet]. 2016;28(4):720-725. Recuperado de: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=427751143005>
9. Corrales, T.; Factores de riesgo asociados a la resistencia *in vitro* de *Candida glabrata* a fluconazol en pacientes con candidiasis vulvovaginal recurrente. [Tesis]. Cumana Venezuela. Universidad de Oriente; 2013.
10. Floridia, R.; Ronchi, G.; Ampuero, V.; Hasuoka, R.; Lapierre, A.; Rodríguez, G.; et al. Caracterización de las especies de *Cándida* halladas en muestras de exudado vaginal de mujeres sintomáticas. Bio-analisis; 2012;35–42. Disponible en: <http://www.revistabioanalisis.com/arxius/notas/cr1A7WLV.pdf>
11. Llovera, V. Prevalencia y sensibilidad de *Candida spp* a fluconazol en la clínica de la Sociedad Anticancerosa de Maracay, Venezuela. [Internet] 2013 junio. [acceso: 14 Nov. 2017]. Revista Vitae, Norteamérica, Disponible en: http://saber.ucv.ve/ojs/index.php/rev_vit/article/view/4540
12. García, R.; Araiza, J.; Basurto, E.; Bonifaz, A. *Candida glabrata* : un oportunista emergente en vulvovaginitis. Rev. Cirugía y Cirujanos México 2009;77(6):455–60

13. Duque, C.; Gómez, B.; Uribe, O.; Alarcón, J.; Soto, F.; Uran, S. Caracterización de la Candidiasis Vulvovaginal en Mujeres de la Ciudad de Medellín, Colombia. 2009. Nova, 7(12), 157-160. doi: <http://dx.doi.org/10.22490/24629448.431>
14. Arechavala, A.; Bianchi, M.; Robles, A.; Santiso, G. Identificación y sensibilidad frente a fluconazol y albaconazol de 100 cepas de levaduras aisladas de flujo vaginal. Rev Iberoam Micol. Argent. 2007; 24: 305-308
15. Pemán, J.; Cantón, E.; Calabuig, E.; Bosch, M.; Valentín, A.; Viudes, A.; et al. Actividad *in vitro* del voriconazol frente a levaduras y algas con los nuevos puntos de corte del patrón de resistencia. Sociedad Española de Quimioterapia. Madrid 2006;19(No 1):21–33.
16. Mendoza, M.; Brito, A.; De la Parte, M. Identificación de especies de levaduras del género *Candida* provenientes de pacientes con vulvovaginitis. ITAE Academia Biomédica Digital, Número 27, Abril-Junio, 2006. [Internet]. 2006 [citado 26 de Agosto de 2018]. Recuperado a partir de: <http://www.bioline.org.br/request?va06014>
17. Buscemi, L.; Arechavala, A.; Negroni, R. Estudio de las vulvovaginitis agudas en pacientes adultas, sexualmente activas, con especial referencia a la candidiasis, en pacientes del hospital de infecciosas Francisco J. Muñiz. Rev Iberoam Micol 2004; 21: 177-181 [Internet]. 2004 [citado 26 de Agosto de 2018]; 43(1). Recuperado a partir de: <http://reviberoammicol.com/2004-21/177181.pdf>
18. Azzam, W.; Cermeño, J.; Orellán, Y.; Penna, S. Vulvovaginitis por *Candida spp.* y *Trichomonas Vaginalis* en Mujeres Sexualmente Activas. Investig Clínica [Internet]. 2007 [citado 26 de junio de 2018]; 43(1). Recuperado a partir de: <http://www.produccioncientificaluz.org/index.php/investigacion/article/view/10255>
19. Guerrero, B.; César, E.; Guillén, A.; Rojas, R.; Díaz, A.; Noriega, E.; et al. Resistencia de *Candida spp.* a fluconazol y voriconazol, Perú- Lima 2013.
20. Muñoz, E.; Angulo, I.; Chávez, M.; Luján, M.; Wilson, J. Aislamiento de *Candida albicans* de mujeres con candidiasis vaginal atendidas en el Hospital. Trujillo. Revista Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas Universidad Nacional de Trujillo- Perú 2012; 32:42–103.
21. Guevara, J.; Bejar, V.; Cáceres, A.; Valencia, E. Variedades de *Candida* en mujeres con flujo vaginal anormal. BVRevistas [Internet]. 2005. [28 abr.2014]; Lima. Disponible en: URL: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/anales/v61_n1/candida.htm
22. Mancilla, G. Sensibilidad Antifúngica de especies de *Candida* aisladas de mujeres con candidiasis vaginal. Hospital Regional de Ayacucho, 2012. [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho Perú.
23. Oscco, L. Sensibilidad antifúngica de especies de *Candida* aisladas de secreción vaginal de gestantes que acuden al Hospital Regional Miguel Ángel Mariscal Llerena, Ayacucho 2014". . [Tesis]. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho Perú.
24. Andrade, M. Identificación de las especies del género *Candida* en gestantes con candidiasis vulvovaginal que acuden al Hospital Gineco-obstétrico Dr. Jaime Sánchez Porcel; Sucre .2014; 210–57.
25. Gobernado, M. Guía Práctica de Identificación y Diagnóstico en Micología Clínica. Revista Iberoamericana de Micología.2011; - ISBN: 84-607-3050-6.
26. Biasoli, Marisa. Candidiasis. [Internet]. Argentina. Centro de Referencia de Micología. Disponible en:

URL:http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/131264/mod_resource/content/2/Apunte%20CANDIDIASIS%202017.pdf

27. Arreola, A. Epidemiología molecular de *Candida spp* en pacientes Gineco-Obstétricas. [Tesis Doctoral]. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior De Ensenada. México, Agosto 2009.
28. Fuentes, M. Estudio de susceptibilidad y mecanismos de resistencia a antifúngicos en *Candida albicans* de aislados clínicos chilenos [Tesis]. Universidad de Chile. 2014.
29. Brook, F.; Morse, S.; Butel, J. Microbiología Médica de Jawets, Melnick y Adelberg. 18ava Edición. Editorial el Manual Moderno, 2008.
30. Muñoz del Valle, M. *Candida glabrata*: un patógeno emergente. Universidad Libre Seccional Barranquilla. Biociencias. Enero-Junio 2015. Vol.10 (1): 89 – 102.
31. Arenas, R. Micología Medica Ilustrada. 5ta. Edición. McGRAW-HILL Interamericana Editores.2014.
32. Laforet, L. Estudio De PGA 26, una proteína implicada en la arquitectura de la pared celular de *Candida albicans*. [Tesis Doctoral]. Universidad de Valencia, 2009.
33. Pineda, J.; Cortés, A.; Uribarren, T.; Castañón, L. Candidiasis vaginal. primera parte : revisión de la clínica, epidemiología y situación de México. Revista Médica Risaralda [Internet] 2015 [acceso el 15 de noviembre 2017]; 21 (1): 58-63. Disponible en: URL: <http://www.scielo.org.co/pdf/rmri/v21n1/v21n1a10.pdf>
34. Ríos, J.; Rodríguez, M. Determinación del perfil de sensibilidad *in vitro* frente a antifúngicos en *Candida spp*. aisladas de flujo vaginal. [Tesis] Universidad Nacional Mayor De San Marcos. Lima- Perú, 2006.
35. Saavedra, V. Candidiasis Vaginal Tratamiento Natural De La Candidiasis Vaginal Recurrente. [Internet] 11 de noviembre de 2009 [Acceso 15 de noviembre 2017], 01:35. Disponible en: <https://vicentesaavedra.blogia.com/temas/candidiasis-vaginal/>
36. Acción farmacológica del fluconazol. 2010. Disponible en: URL: <http://www.es.wikipedia.org/wiki/fluconazol>.
37. Antifúngicos [web]. [acceso 15 de agosto 2018]. Disponible en: <https://es.wikipedia.org/wiki/Antif%C3%BAngico>
38. Gómez, CH. Resistencia de levaduras del género *Candida* al fluconazol. Revista Infectio Bogota- Colombia. 2010; 14(2): 172-180.
39. López, K.; Dzul, K.; Caballero, C.; Arias, J.; Zavala, J. Mecanismos de resistencia antifúngica de los azoles en *Candida albicans*. Revista Biomédica [Internet] 2016 [acceso 15 de noviembre 2017]; 27:127-136. Disponible en URL: <http://www.revbiomed.uady.mx/pdf/rb162735.pdf>
40. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos y técnicas de laboratorio para la identificación de los principales hongos oportunistas causantes de micosis humanas. Lima. 2007.
41. Instituto Nacional de Salud. Manual de procedimientos técnicos para el diagnóstico micológico. Lima 2017.
42. Cantón, E.; Martín, E.; Espinel, A. Métodos estandarizados por el CLSI para el estudio de la sensibilidad a los antifúngicos (documentos M27-A3,M38-A Y M44-A). Asoc. Española de Micología. Rev. Iberoamericana.2007.
43. Zurita, M. Situación de la resistencia antifúngica de especies del género *Candida* en Perú. Rev. perú. med. exp. salud pública [Internet]. 2018 Ene [citado 2018 Nov. 01]; 35(1): 126-131. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-46342018000100019&lng=es.ttp://dx.doi.org/10.17843/rpmesp.2018.351.35

ANEXOS

Anexo 1. Lectura visual de la evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria a fluconazol.

LECTURA VISUAL M27-A3 (CLSI)													
ANTIFÚNGICO/ TIEMPO DE INCUBACIÓN: FLUCONAZOL/48h													
	CIM (µg/mL)											11	12
	Nº POCILLO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
	CONCENTRACION	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25		
	LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO)												
A	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	0	0	0	0	0	1	2	3	4	4	C O N T R O L D E	C R E C I M I E N T O
B	<i>C. krusei</i> ATCC 6258	0	0	1	2	3	4	4	4	4	4		
C	<i>C. albicans</i> Cepa 01	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
D	<i>C. albicans</i> Cepa 02	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
E	<i>C. albicans</i> Cepa 03	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
F	<i>C. albicans</i> Cepa 04	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
G	<i>C. albicans</i> Cepa 05	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
H	<i>C. albicans</i> Cepa 06	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO):													
0= Ópticamente claro (0%); 1= Ligeramente turbio (25%); 2= Considerable reducción de la turbidez (50%); 3= Pequeña reducción de la turbidez (75%); 4= sin reducción de la turbidez (100%).													
La CIM para Azoles se define como la concentración más baja con valor 2 en la escala													

LECTURA VISUAL M27-A3 (CLSI)													
ANTIFÚNGICO/ TIEMPO DE INCUBACIÓN: FLUCONAZOL/48h													
	CIM (µg/mL)											11	12
	Nº POCILLO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
	CONCENTRACION	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25		
LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO)												C O N T R O L D E	C R E C I M I E N T O
A	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	0	0	0	0	0	1	2	3	4	4		
B	<i>C. krusei</i> ATCC 6258	0	0	1	2	3	4	4	4	4	4		
C	<i>C. albicans</i> Cepa 07	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
D	<i>C. albicans</i> Cepa 08	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
E	<i>C. albicans</i> Cepa 09	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
F	<i>C. albicans</i> Cepa 10	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
G	<i>C. glabrata</i> Cepa 11	0	0	2	2	4	4	4	4	4	4		
H	<i>C. glabrata</i> Cepa 12	0	0	0	2	3	4	4	4	4	4		
LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO):													
0= Ópticamente claro (0%); 1= Ligeramente turbio (25%); 2= Considerable reducción de la turbidez (50%); 3= Pequeña reducción de la turbidez (75%); 4= sin reducción de la turbidez (100%).													
La CIM para Azoles se define como la concentración más baja con valor 2 en la escala.													

LECTURA VISUAL M27-A3 (CLSI)													
ANTIFÚNGICO/ TIEMPO DE INCUBACIÓN: FLUCONAZOL/48h													
	CIM (µg/mL)											11	12
	Nº POCILLO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
	CONCENTRACIÓN	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25		
	LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO)												
	A	C. parapsilosis ATCC 22019	0	0	0	0	0	1	2	3	4		
B	C. krusei ATCC 6258	0	0	1	2	3	4	4	4	4	4		
C	C. glabrata Cepa 13	0	0	0	2	3	4	4	4	4	4		
D	C. krusei Cepa 14	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
E	C. parapsilosis Cepa 15	0	0	0	0	1	2	3	4	4	4		
F	C. tropicalis Cepa 16	0	0	0	0	0	0	0	1	2	4		
G													
H													
LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO): 0= Ópticamente claro (0%); 1= Ligeramente turbio (25%); 2= Considerable reducción de la turbidez (50%); 3= Pequeña reducción de la turbidez (75%); 4= sin reducción de la turbidez (100%). La CIM para Azoles se define como la concentración más baja con valor 2 en la escala													

Anexo 2. Lectura visual de la evaluación de la Concentración Mínima Inhibitoria a voriconazol.

LECTURA VISUALM27-A3 (CLSI)													
ANTIFÚNGICO/ TIEMPO DE INCUBACIÓN: VORICONAZOL/48h													
	CIM (µg/mL)											11	12
	Nº POCILLO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
	CONCENTRACIÓN	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,13	0,06	0,03		
	LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO)												
A	C. parapsilosis ATCC 22019	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	C O N T R O L D E	C R E C I M I E N T O
B	C. krusei ATCC 6258	0	0	0	0	0	0	2	3	4	4		
C	C. albicans Cepa 01	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
D	C. albicans Cepa 02	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
E	C. albicans Cepa 03	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
F	C. albicans Cepa 04	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
G	C. albicans Cepa 05	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
H	C. albicans Cepa 06	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO):													
0= Ópticamente claro (0%); 1= Ligeramente turbio (25%); 2= Considerable reducción de la turbidez (50%); 3= Pequeña reducción de la turbidez (75%); 4= sin reducción de la turbidez (100%).													
La CIM para Azoles se define como la concentración más baja con valor 2 en la escala													

LECTURA VISUAL M27-A3 (CLSI)													
ANTIFÚNGICO/ TIEMPO DE INCUBACIÓN: VORICONAZOL/48h													
	CIM (µg/mL)											11	12
	Nº POCILLO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
	CONCENTRACIÓN	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,13	0,06	0,03		
LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO)													
A	C. parapsilosis ATCC 22019	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2	C O N T R O L D E	C R E C I M I E N T O
B	C. krusei ATCC 6258	0	0	0	0	0	0	2	3	4	4		
C	C. albicans Cepa 07	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
D	C. albicans Cepa 08	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
E	C. albicans Cepa 09	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
F	C. albicans Cepa 10	4	4	4	4	4	4	4	4	4	4		
G	C. glabrata Cepa 11	0	0	0	0	1	2	3	4	4	4		
H	C. glabrata Cepa 12	0	0	0	0	0	0	2	3	4	4		
LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO):													
0= Ópticamente claro (0%); 1= Ligeramente turbio (25%); 2= Considerable reducción de la turbidez (50%); 3= Pequeña reducción de la turbidez (75%); 4= sin reducción de la turbidez (100%). La CIM para Azoles se define como la concentración más baja con valor 2 en la escala													

LECTURA VISUAL M27-A3 (CLSI)													
ANTIFÚNGICO/ TIEMPO DE INCUBACIÓN: VORICONAZOL/48h													
	CIM (µg/mL)											11	12
	Nº POCILLO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		
	CONCENTRACIÓN	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0,13	0,06	0,03		
LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO)												C R E C I M E N T O C O N T R O L D E	B L A N C O
A	<i>C. parapsilosis</i> <i>ATCC 22019</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	1	2		
B	<i>C. krusei</i> <i>ATCC 6258</i>	0	0	0	0	0	0	2	3	4	4		
C	<i>C. glabrata</i> Cepa 13	0	0	0	0	1	2	3	4	4	4		
D	<i>C. krusei</i> Cepa 14	0	0	0	0	0	1	2	3	4	4		
E	<i>C. parapsilosis</i> Cepa 15	0	0	0	0	0	1	2	3	4	4		
F	<i>C. tropicalis</i> Cepa 16	0	0	0	0	0	0	0	2	3	4		
G													
H													
LECTURA VISUAL (VALOR ASIGNADO):													
0= Ópticamente claro (0%); 1= Ligeramente turbio (25%); 2= Considerable reducción de la turbidez (50%);													
3= Pequeña reducción de la turbidez (75%); 4= sin reducción de la turbidez (100%).													
La CIM para Azoles se define como la concentración más baja con valor 2 en la escala													

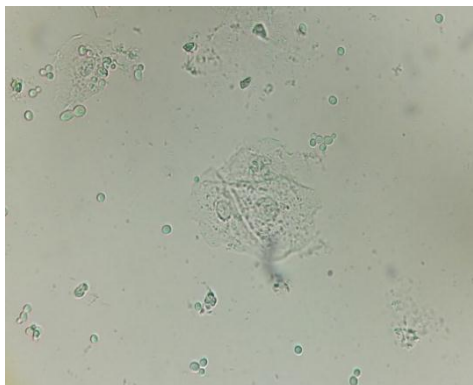
Anexo 3. Susceptibilidad antifúngica por el Método de Difusión en Disco y Microdilución en la detección de especies de *Candida* resistentes y SDD a Fluconazol y Voriconazol, Ayacucho 2017.

Identificación	Método Difusión en Disco		Método de Microdilución	
	(mm)		(µg/mL)	
	FLUCONAZOL	VORICONAZOL	FLUCONAZOL	VORICONAZOL
<i>C. albicans</i>	SDD	SDD	R	R
<i>C. albicans</i>	SDD	S	R	R
<i>C. albicans</i>	R	SDD	R	R
<i>C. albicans</i>	R	S	R	R
<i>C. albicans</i>	SDD	S	R	R
<i>C. albicans</i>	SDD	S	R	R
<i>C. albicans</i>	R	R	R	R
<i>C. albicans</i>	R	SDD	R	R
<i>C. albicans</i>	R	R	R	R
<i>C. albicans</i>	R	R	R	R
<i>C. glabrata</i>	SDD	S	SDD	S
<i>C. glabrata</i>	SDD	S	SDD	S
<i>C. glabrata</i>	R	S	SDD	S
<i>C. krusei</i>	R	S	R	S
<i>C. parapsilosis</i>	S	S	S	S
<i>C. tropicalis</i>	S	S	S	S

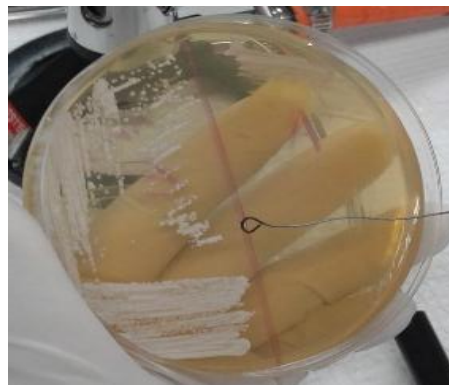
Leyenda:

S : Sensible
SDD : Sensible dosis dependiente
R : Resistentes

Anexo 4. Pruebas para la identificación de especies de *Candida*



Fotografía 01: Examen directo, presencia de hifas y levaduras



Fotografía 02: Colonias típicas de *Candida* en Agar Sabouraud Dextrosa.



Fotografía 03: Prueba de tubo germinativo para *Candida albicans*



Fotografía 04: Prueba de ureasa para cepas de *Candida*.



Fotografía 05: Resistencia a la Cicloheximida en Agar Mycosel para cepas de *Candida*.



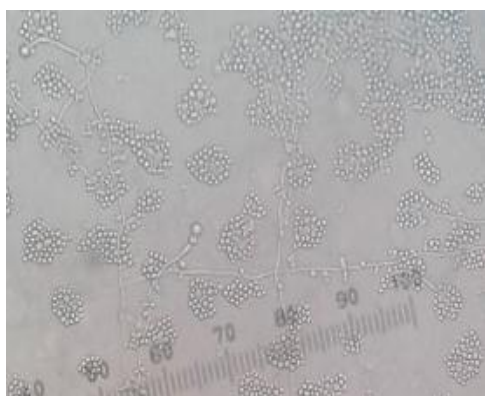
Fotografía 06: Formación de película en Caldo Sabouraud para *Candida krusei*.



Fotografía 07: Identificación bioquímica enzimática en Agar Chrom.



Fotografía 08: Asimilación de Carbohidratos de *Candida albicans*



Fotografía 09: Producción de clamidospora de *Candida albicans*



Fotografía 10: Asimilación de Carbohidratos de *Candida krusei*

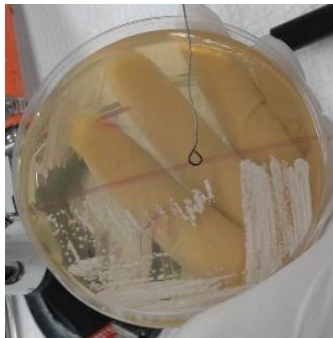


Fotografía 11: Aislamiento de *Candida* en el Lab. Referencial.

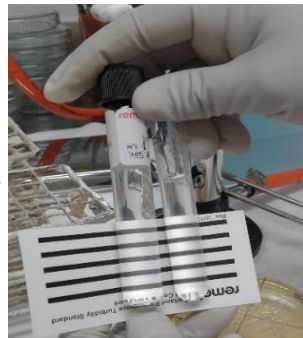


Fotografía 12: Cepas de *Candida*

Anexo 5. Esquema de la prueba de susceptibilidad antifúngica por el Método de Difusión en Disco.



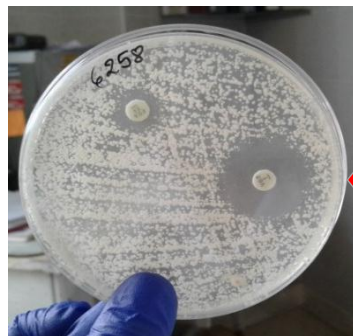
Cultivo de 24h de desarrollo de Candida



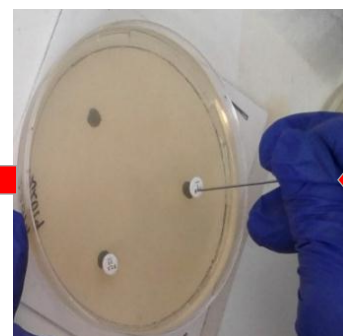
Resuspender en 5 mL SSF Y Comparar la turbidez a 0.5 de la escala Mac Farland



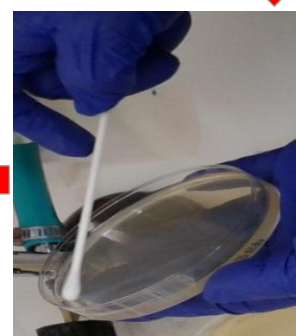
Embebecer el hisopo estéril con la solución.



Medición de halos de inhibición

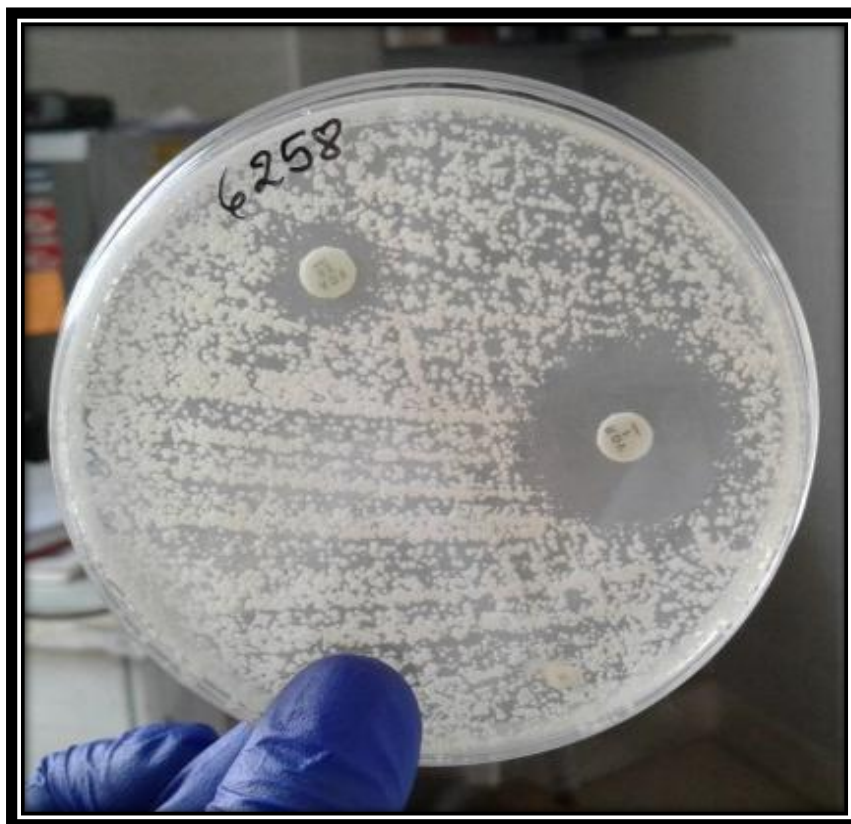


Colocar los discos e incubar a 37°C x 24h.



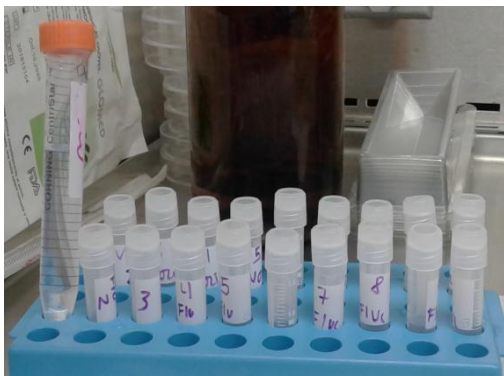
Sembrar en tres direcciones en Agar Mueller Hinton

Anexo 6. Fotografía de una Cepa resistente a fluconazol y sensible a voriconazol

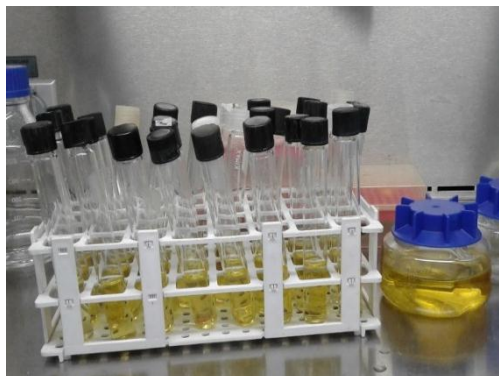


Fotografía 13: Cepa resistente a fluconazol y sensible a voriconazol

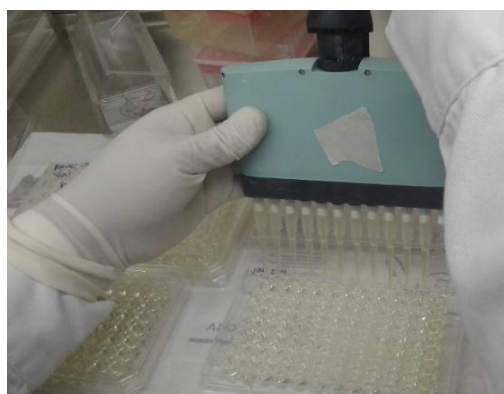
Anexo 7. Procedimiento para la determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria.



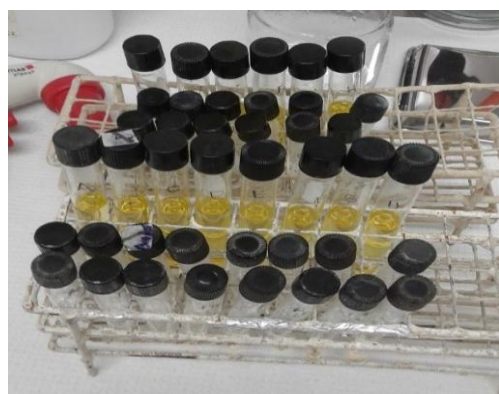
Fotografía 14: Diluciones seriadas de los antifúngicos



Fotografía 15: Medio RPMI



Fotografía 16: Dispensando los antifúngicos diluidos a las microplacas



Fotografía 17: Preparación del inóculo para cargar a las microplacas



Fotografía 18: Conservación del inóculo en bloquetas de hielo.



Fotografía 19: Extracción de bomba al vacío del medio RPMI

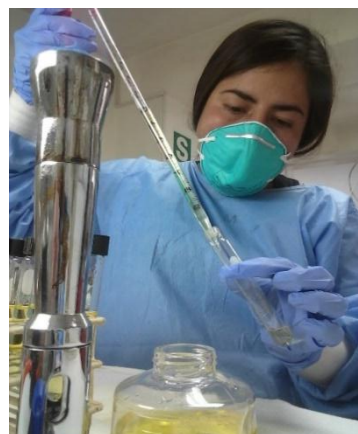
Anexo 8. Fotografías de la tesista procesando en el Laboratorio de Micología del Instituto Nacional (INS).



Fotografía 20: Realizando cultivo de *Candida*.



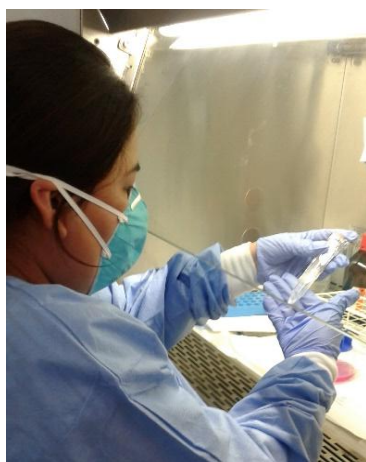
Fotografía 21: Distribución del medio RPMI en los tubos de vidrio.



Fotografía 22: Dispensando medio RPMI



Fotografía 23: Observación de Clamidosporas de *Candida albicans*.

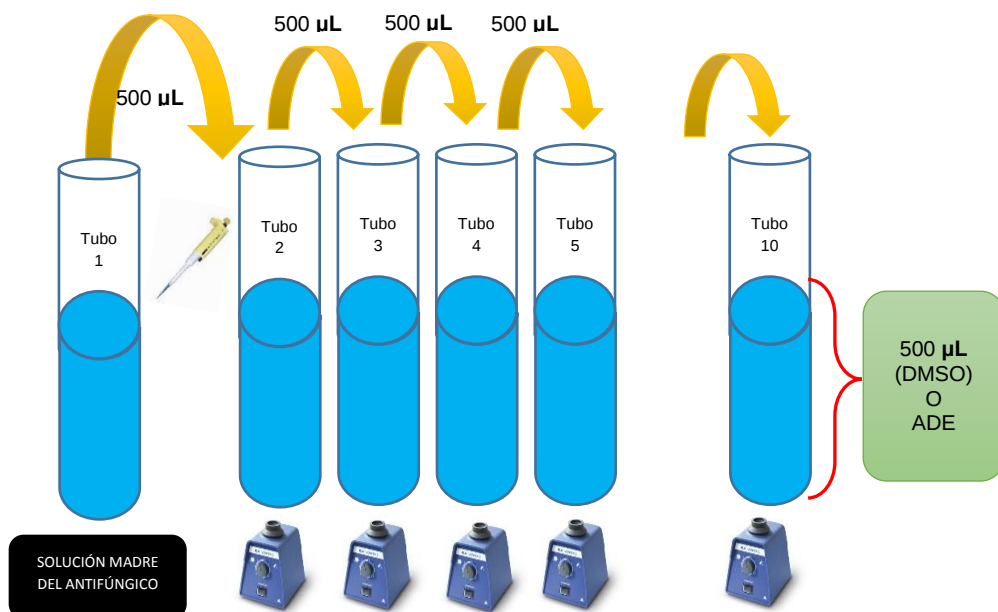


Fotografía 24: Preparación de la Solución madre del

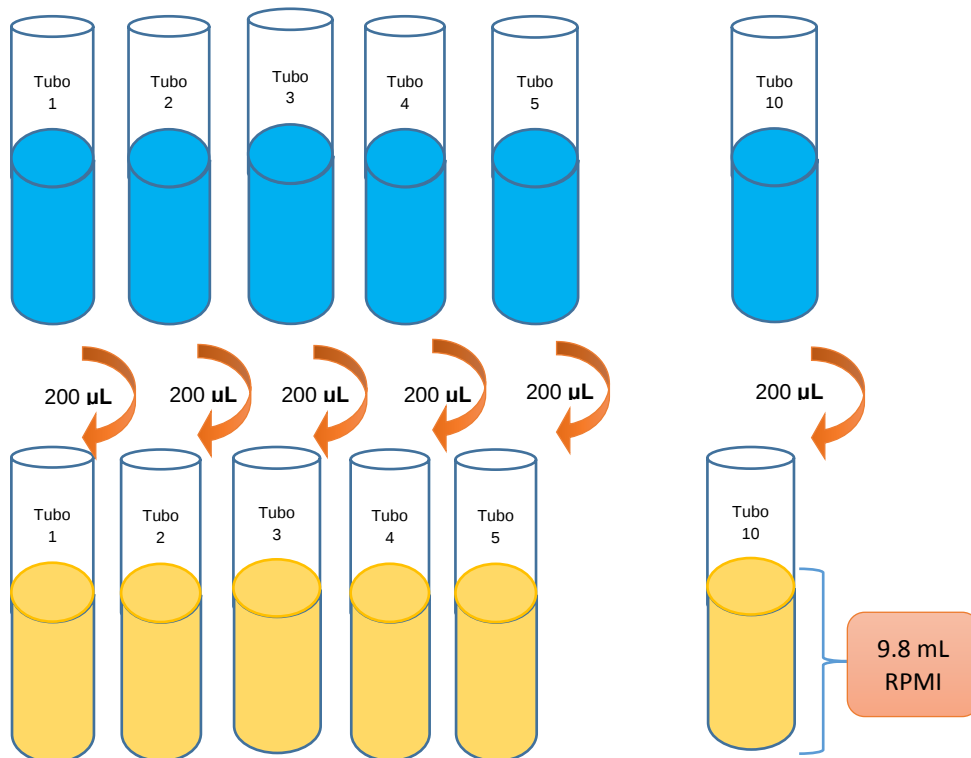


Fotografía 25: Tesista con la Blga. Flor Urcia en el Lab. de Micología del INS.

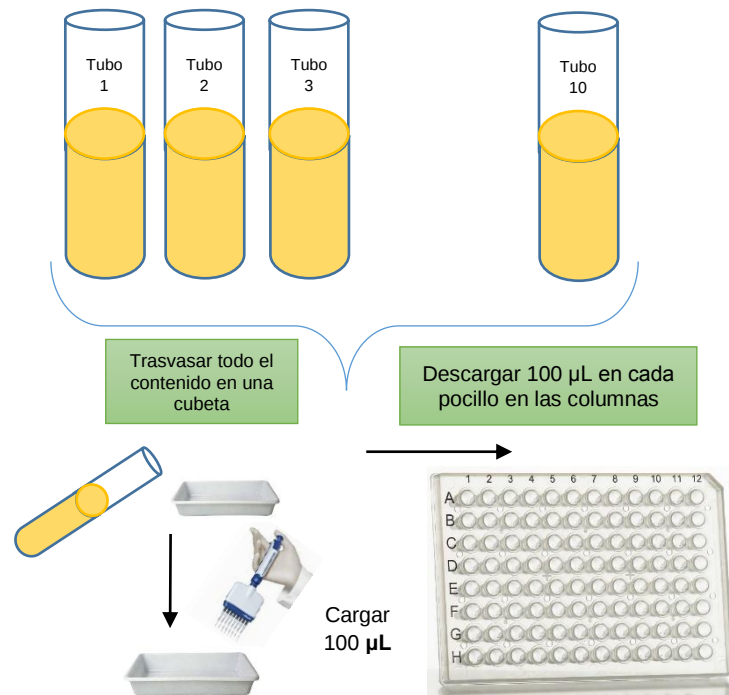
Anexo 9. Esquema de la preparación de las diluciones seriadas del antifúngico.



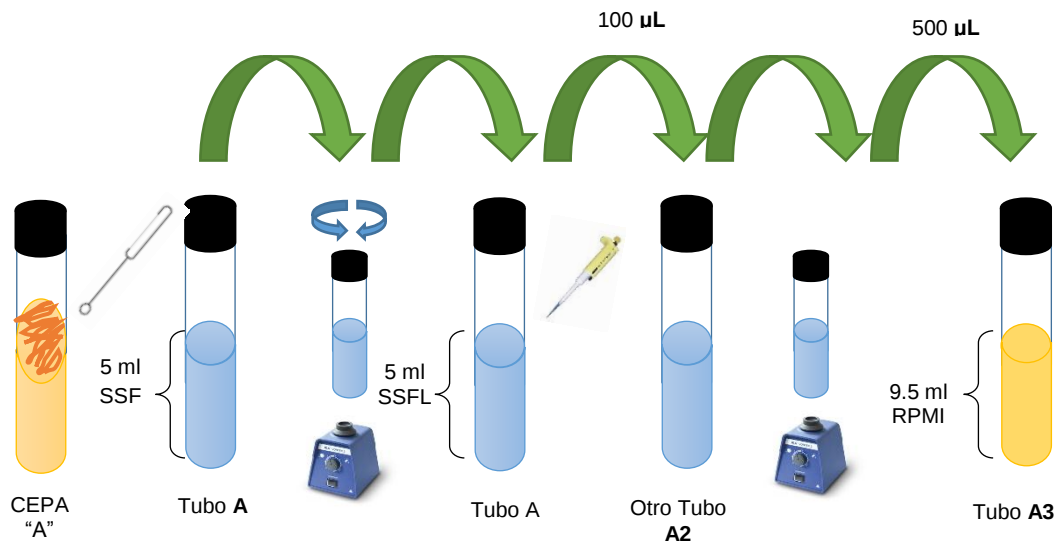
Anexo 10. Esquema de la preparación de las diluciones para cargar en la microplaca.



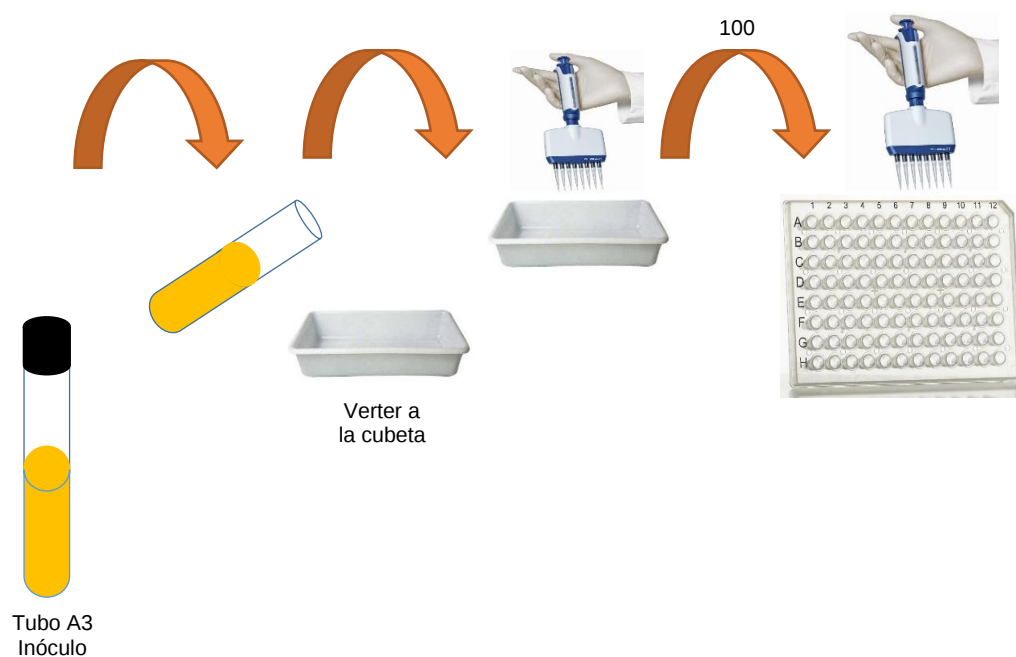
Anexo 11. Esquema de la carga de los antifúngico seriado a las microplacas.



Anexo 12. Esquema de la preparación del inóculo.



Anexo 13. Esquema de la inoculación de las cepas a las microplacas



Anexo 14. Lectura visual de la Concentración Mínima Inhibitoria en la lámpara de luz.



Anexo 15. Cuadro de Identificación de especies de *Candida*.⁴⁰

CEPAS	TG (2hrs y 30 min a 37°C)	CL (24hrs T° amb)	CHROM (24-48 hrs a 37°C)	UREA (24 hrs a 37°C)	MYC (3 días a T° amb)	VELO (3 días a T° amb)	CARACTERÍSTICAS BIOQUÍMICAS (48 hr a 37°C)					
							GLU	LAC	SAC	MAL	GAL	RAF
<i>Candida albicans</i>	(+)	(+)	VERDES	(-)	(++)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)
<i>Candida glabrata</i>	(-)	(-)	BORDE BLANCO Y CENTRO ROSADO	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
<i>Candida parapsilosis</i>	(-)	(-)	CREMAS	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)
<i>Candida tropicalis</i>	(-)	(+)	AZULES	(-)	(-)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)
<i>Candida krusei</i>	(-)	(-)	ROSADAS	(+/-)*	(-)	(+)	(+)	(-)	-	(-)	(-)	(-)
<i>Candida guilliermondii</i>	(-)	(-)	VIOLETA	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
<i>Candida lusitanae</i>	(-)	(-)	BLANCA	(-)	(+/-)*	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(-)	(-)
<i>Candida dubliniensis</i>	(+)	(+)	VERDES OSCURAS	(-)	(+/-)*	(-)	(+)	(-)	(+)	(+)	(+)	(-)

Leyenda:

TG : Tubo germinativo

CL : Clamidosporas

MYC : Agar Mycosel

GLU : Glucosa

LAC : Lactosa

SAC : Sacarosa

MAL : Maltosa

GAL : Galactosa

RAF : Rafinosa

CHROM: Agar Chrom

*: (Variable)

Anexo 16. Permisos correspondientes de la investigación

 **GOBIERNO REGIONAL AYACUCHO**
DIRECCIÓN REGIONAL DE SALUD AYACUCHO

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

CONSTANCIA N° 059

AUTORIZACIÓN PARA EJECUCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Ref.: Carta N° 026-2017-UNSH-FCB

El Director General de la Dirección Regional de Salud Ayacucho, por medio de la presente comunica a la:

SRTA. LISBETH ROXANA HERRERAS GÓMEZ

Investigadora principal de la investigación: "RESISTENCIA A ANTIFÚNGICOS DE ELECCIÓN DE ESPECIES DE CANDIDA AISLADAS DE PACIENTES CON CANDIDIASIS VAGINAL, AYACUCHO 2017"

Que, al haberse evaluado los documentos remitidos y socializado en las instalaciones de la institución la investigación, se **AUTORIZA** su ejecución en el Laboratorio Regional de la DIRESA. Teniendo como compromiso remitir el informe final y/o artículos publicados.

La presente tendrá vigencia hasta el 31 de mayo del 2018, dejando sin efecto la presente posterior a la fecha mencionada.

Ayacucho, 22 de diciembre del 2017






Urbanización Mariscal Cáceres Mzta "L" lote 1 y 2
Telef.: 0066-328257 - 190-100, anexo 108



"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

JEFE DE LA UNIDAD DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN DEL HOSPITAL REGIONAL "MIGUEL ÁNGEL MARISCAL LLERENA" DE AYACUCHO

CONSTANCIA

AUTORIZACIÓN PARA EJECUCIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

Por el presente se le comunica a usted, en cumplimiento con lo establecido en el reglamento del Hospital Regional de Ayacucho, la Unidad de Apoyo de Docencia e Investigación declara PROCEDENTE la realización para la Ejecución del trabajo de Investigación "Resistencia a antifúngicos de elección de especies de Candida aisladas de pacientes con candidiasis vaginal, Ayacucho 2017" de la Bach. HERRERAS GÓMEZ, Lisbeth Roxana de la Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, desde el 04 de Diciembre 2017 hasta el 30 de Marzo 2018.

Ayacucho, 30 de Noviembre del 2017


DR. DAVID ABALÓN LAURA DE LA CRUZ
JEFE DE LA UNIDAD DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN DEL
HOSPITAL REGIONAL "MIGUEL ÁNGEL MARISCAL LLERENA"

MINISTERIO DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE SALUD

"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

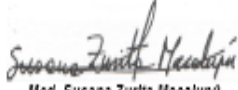
NOTA INFORMATIVA N° 141 - 2018 Laboratorio de Micología/DEET/CN 3P

CONSTANCIA

A quien corresponda:

Por la presente doy constancia que en el Laboratorio de Referencia Nacional de Micología CN8P/IN8 se realizó el control de calidad en la identificación de especie y susceptibilidad antifúngica de 16 cepas, obtenidas en el proyecto de tesis "Resistencia a antifúngicos de elección de especies de Candida aisladas de pacientes con candidiasis vaginal, Ayacucho 2017" de la Bach. Srita. Lisbeth Roxana Herreras Gómez, de Ciencias Biológicas - Facultad de Ciencias Biológicas - Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga.

Atentamente,


Med. Susana Zurita Macalupo
Responsable del Laboratorio de Micología
Centro Nacional de Salud Pública
Instituto Nacional de Salud

Anexo 17. Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVO	MARCO TEÓRICO	HIPÓTESIS	VARIABLES DE ESTUDIO	DISEÑO METODOLOGÍA
¿Cuál será la resistencia a antifúngicos de elección de especies de Candida aisladas de pacientes con candidiasis vaginal, Ayacucho 2017?	OBJETIVO GENERAL Determinar la resistencia a antifúngicos de elección de especies de Candida aisladas de pacientes con candidiasis vaginal, Ayacucho 2017. OBJETIVO ESPECÍFICO - Identificar especies de Candida aisladas de pacientes con candidiasis vaginal, Ayacucho 2017. - Determinar la frecuencia de especies de Candida aisladas de pacientes con candidiasis vaginal, Ayacucho 2017. - Determinar la susceptibilidad antifúngica de especies de Candida frente a antifúngicos de elección, Ayacucho 2017. - Determinar la Concentración Mínima Inhibitoria de las especies de Candida resistentes y sensibles dosis dependientes, Ayacucho 2017.	-Candidiasis vulvovaginal -Agentes etiológicos -Taxonomía - Epidemiología de la Candidiasis. - Patogenicidad - Cuadro Clínico - Antifúngicos - Resistencia	Las especies de Candida si presentan resistencia a los antifúngicos.	a). Resistencia a antifúngicos de elección Indicadores: Puntos de corte de diámetro para <i>Candida spp.</i> Fluconazol $S \geq 19$; S-DD 15 – 18; $R \leq 14$ Voriconazol $S \geq 17$; S-DD 14 – 16; $R \leq 13$ b). Especies de Candida Indicadores: -<i>Candida albicans</i> -<i>Candida glabrata</i> -<i>Candida krusei</i> -<i>Candida parapsilosis</i> -<i>Candida tropicalis</i>	TIPO DE INVESTIGACIÓN. Descriptivo DEFINICIÓN DE LA POBLACIÓN. Constituida por 110 cepas de Candida METODOLOGIA: Toma de muestra Secreciones vaginales Tipificación de especies de Candida • Tubo germinativo • CHROM Agar • Formación de Película • Producción de clamidospora • Prueba de la ureasa • Asimilación de Carbohidratos • Resistencia a la cicloheximida Susceptibilidad antifúngica Método de Difusión en Disco. Determinación de Concentración Mínima Inhibitoria. (Técnica Microdilución) Análisis Estadístico Se trabajará solo con los promedios, utilizando el programa de hoja de cálculo Excel, se procesarán los datos mediante gráficos correspondientes a las variaciones del número de especies de Candida y resistencia a los antifúngicos de elección.