



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

TÍTULO

**IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CÁNDIDA EN MUESTRAS
OROFARÍNGEAS DE PACIENTES DIABÉTICOS
CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS QUE ACUDEN AL
HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA.**

Tesis de grado previa a la
obtención del Título de
Licenciada en Laboratorio Clínico

AUTORA:

Tatiana Gabriela Astudillo Yépez

DIRECTORA:

Lic. Glenda Rodríguez León Mg. Sc.

LOJA – ECUADOR
2015

CERTIFICACIÓN

Lic. Mg.

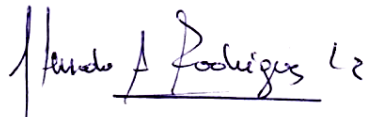
Glenda Rodríguez León

DIRECTORA DE TESIS

CERTIFICA:

Que la tesis titulada “IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CÁNDIDA EN MUESTRAS OROFARÍNGEAS DE PACIENTES DIABÉTICOS CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA” de autoría de la egresada de la Carrera de Laboratorio Clínico Tatiana Gabriela Astudillo Yépez ha sido revisada, dirigida y aprobada en su integridad, por lo que autorizo su presentación y publicación.

Loja, Junio del 2015



Lic. Glenda Rodríguez León. Mg.Sc

DIRECTORA DE TESIS

AUTORÍA

Yo, Tatiana Gabriela Astudillo Yépez, declaro ser autora del presente trabajo de investigación titulado "IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CÁNDIDA EN MUESTRAS OROFARÍNGEAS DE PACIENTES DIABÉTICOS CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA" y eximo expresamente a la Universidad Nacional de Loja y a sus representantes jurídicos de posibles reclamos o acciones legales, por el contenido de la misma.

Adicionalmente acepto y autorizo a la Universidad Nacional de Loja, la publicación de mi tesis en el Repositorio Institucional-Biblioteca Virtual.

Autora: Tatiana Gabriela Astudillo Yépez

Firma: 

Cédula: 1104745169

Fecha: 31 de Julio del 2015

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE TESIS

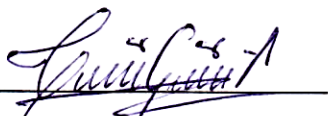
Yo, Tatiana Gabriela Astudillo Yépez, declaro ser la autora de la tesis titulada **“IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CÁNDIDA EN MUESTRAS OROFARÍNGEAS DE PACIENTES DIABÉTICOS CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA”**, como requisito para optar al grado de Licenciada en Laboratorio Clínico, autorizo al sistema bibliotecario de la Universidad Nacional de Loja para que con fines académicos muestre la producción intelectual, a través de la visibilidad de su contenido de la siguiente manera en el repositorio institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el DRL, en las redes de información.

La Universidad Nacional de Loja no se responsabiliza por el plagio o copia de la tesis que realice un tercero.

Para constancia de esta autorización, se firma en la ciudad de Loja el 31 de julio del 2015

Firma:



Autora: Tatiana Gabriela Astudillo Yépez

CI: 110474516-9

Dirección: Loja

Email: taty_2389@hotmail.com

Celular: 0991898985

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Directora de tesis: Lic. Glenda Alfarita Rodríguez León Mg.Sc.

Tribunal de grado: Presidenta: Lic. Carmen Alejandra Ullauri González. Mg. Sc

Vocal: Dra. Maricela del Rosario López Morocho. Mg. Sc.

Vocal: Dra. Paola Mercedes Benítez Castrillón. Mg. Sc.

DEDICATORIA

Este trabajo lo dedico con mucho afecto a mi madre Marianita que con su ejemplo de superación y dedicación me supo brindar todo el apoyo para la culminación de mi carrera profesional; a mi esposo Luis que me acompañó a lo largo de toda mi carrera, a mi hijo Joaquin quien me motiva a seguir luchando para lograr mis metas propuestas y a toda mi familia que compartió conmigo cada etapa.

Tatiana Gabriela Astudillo Yépez

AGRADECIMIENTO

Deseo expresar mi agradecimiento a todas las personas que hicieron posible la culminación del presente trabajo investigativo, mi agradecimiento especial a la Lic. Mgs. Sc. Glenda Rodríguez quien me apoyó en todo momento su dirección y sugerencias a lo largo de toda la investigación.

A la Universidad Nacional de Loja, al Área de la Salud Humana, a través de la Carrera de Laboratorio Clínico, donde adquirí los conocimientos teóricos y prácticos que han contribuido a mi formación profesional.

Agradezco a todo el personal del Hospital Isidro Ayora de Loja que ayudaron para la realización del trabajo investigativo, especialmente al Dr. Daniel Pacheco Director del Departamento de Docencia e Investigación y al Lic. Ángel Luzón, Responsable del Laboratorio Clínico del HIAL; que me permitieron toda la facilidad y accesibilidad para realización del trabajo de campo en esta prestigiosa institución de salud.

Tatiana Gabriela Astudillo Yépez

1. Título

**“IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CÁNDIDA EN MUESTRAS OROFARÍNGEAS
DE PACIENTES DIABÉTICOS CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS QUE
ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA”**

2. RESUMEN

La candidiasis oral es una enfermedad que afecta al tracto orofaríngeo, es ocasionada por hongos del género *Cándida* principalmente por *C. albicans*; que habita normalmente en el cuerpo; sin embargo, se desarrolla en forma descontrolada debido a que el sistema inmunitario no es lo suficientemente competente como para controlar un crecimiento anormal del hongo. (1) La candidiasis es una enfermedad frecuente en la población y fundamentalmente en pacientes diabéticos; en los que se observa el crecimiento excesivo de *Cándida* a nivel de la boca, tracto digestivo, vagina y otros tejidos (2). En la presente investigación se empleó 61 muestras orofaríngeas de pacientes diabéticos controlados y no controlados que acudieron al Hospital Isidro Ayora de Loja, con la finalidad de conocer las principales especies de *Cándida* presentes en los pacientes en estudio; identificar la especie que predomina en cada uno de estos grupos de estudio aplicando protocolos establecidos, empleo de cultivo Agar Sabouraud y cultivo diferencial-específico CHROMagar *Cándida*; y difusión de resultados obtenidos en la investigación mediante entrega de tríptico informativo a los pacientes que formaron parte de la investigación. Del total de muestras analizadas se obtuvo 45 cultivos positivos en los que se identificó las principales especies de este género, presentándose: en pacientes diabéticos no controlados: *Cándida albicans* (45%), *Cándida glabrata* (25%), *Cándida krusei* (15%) y finalmente *Cándida tropicalis* (8%), y en pacientes diabéticos controlados: *Cándida albicans* (80%), *Cándida krusei* (13%) *Cándida glabrata* (7%). Luego del análisis de las muestras se pudo identificar que la especie predominante en los dos grupos de estudio es la *Cándida albicans* siendo esta especie la que presenta mayor virulencia y patogenicidad; en base a los resultados obtenidos se pudo observar que el estado metabólico de los pacientes es un factor fundamental para el desarrollo de candidiasis, tomando en cuenta que en el estudio los pacientes diabéticos no controlados presentaron mayor crecimiento de las diversas especies de *Cándida* y un mayor número de cultivos positivos en comparación a los diabéticos controlados.

Palabras Clave: Especies de *Cándida*, muestras orofaríngeas, cultivo, pacientes diabéticos.

SUMMARY

Thrush is a disease that affects the oropharyngeal tract, is caused by fungi of the genus *Candida* mainly by *C. albicans*; which normally live in the body; however, it develops out of control because the immune system is not competent enough to control abnormal growth of the fungus. (1) Thrush is a common disease in the population, primarily in diabetic patients; where *Candida* overgrowth observed at the level of the mouth, digestive tract, vagina and other tissues (2). In this research 61 oropharyngeal samples controlled and uncontrolled diabetic patients who attended the Isidro Ayora Hospital of Loja, in order to meet the main species of *Candida* present in patients under study was used; identify the species that predominates in each of these study groups using established protocols, employment and Sabouraud agar culture-specific differential CHROMagar *Candida* culture; and dissemination of research results in the delivery of information leaflet for patients who were part of the investigation. Of the total 45 samples tested positive cultures were obtained in which the main species of this genus are identified, appearing: in diabetic patients not controlled: *Candida albicans* (45%), *Candida glabrata* (25%), *Candida krusei* (15%) *Candida tropicalis* and finally (8%), and controlled diabetic patients: *Candida albicans* (80%), *Candida krusei* (13%) *Candida glabrata* (7%). After analysis of the samples could be identified that the predominant species in the two study groups being *Candida albicans* is the species that has increased virulence and pathogenicity; based on the results obtained, it was observed that the metabolic status of patients is fundamental to the development of candidiasis factor, considering that the study diabetics uncontrolled patients had higher growth of various species of *Candida* and more number of positive cultures compared to controlled diabetics.

Keywords: Keywords: *Candida* species, oropharyngeal samples, culture, diabetic patients.

3. INTRODUCCIÓN

La Diabetes Mellitus es un importante problema de salud pública con elevada morbimortalidad. Es una enfermedad crónica metabólica que se caracteriza por un aumento de glucosa denominada hiperglucemia, cuyo origen es un defecto en la secreción de insulina causada por destrucción de células beta del páncreas (Diabetes tipo 1) o por resistencia a la insulina (Diabetes tipo 2) (3).

El incremento que se ha dado de personas afectadas por Diabetes Mellitus es exponencial, específicamente para Centro y Suramérica, para el 2010 se estimó aproximadamente 18 millones de personas afectadas; actualmente 52% del total de las personas diabéticas en el continente conviven con esta enfermedad en América Latina (4).

Las personas diabéticas pueden desarrollar patologías de diversa índole, algunas se presentan con mayor gravedad y complicaciones. Se conoce que la inmunidad está alterada en este tipo de pacientes; por ello, la disminución del poder fagocitario de los leucocitos podría estar directamente relacionada con el grado de hiperglucemia, sobre todo si existe desnutrición, trastornos de la hidratación o del pH sanguíneo (2).

Uno de los problemas de salud que se presentan en las personas diabéticas es la alteración de la flora normal de las diferentes estructuras anatómicas entre ellos de la cavidad orofaríngea, pudiendo organismos inocuos comportarse como patógenos, es el caso de microorganismos oportunistas como los hongos del género *Cándida*. La *Cándida* es un hongo común que el sistema inmunitario consigue generalmente controlar, sin embargo, en las personas inmunodeprimidas, como es el caso de las personas diabéticas, puede multiplicarse en las membranas mucosas o en otras partes del cuerpo y provocar la aparición de una infección que se conoce como candidiasis (2).

En la cavidad oral existe una amplia variedad de especies de *Cándida*, las mismas que forman parte de la flora normal de la boca de un 40% de la población aparentemente sana sin causar alteración en la salud; sin embargo, esta situación es diferente en personas con deficiencia del sistema inmunitario, el cual en una persona sana, mantiene el equilibrio para evitar una proliferación innecesaria de microorganismos; esta flora al encontrarse de manera saprofita en estructuras orgánicas como la cavidad orofaríngea, puede transformarse en patógena causando daño al huésped, de variada gravedad.

De acuerdo a los datos encontrados en la literatura, en referente a las especies de *Cándida* las más frecuentes son, *C. albicans*, seguida de *C. glabrata*, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*, *C. famata*, *C. lipolytica*, *C. rugosa*, *C. zeylanoides* (5).

La presencia de *Cándida* en la cavidad oral oscila entre un 20% y un 70% según información de estudios realizados en países como España, cuyo tema de estudio son las candidiasis orales llevada a cabo por José Manuel Aguirre, en la Universidad de Vasco, Bilbao en los cuales se encuentra que *C. albicans* es la especie aislada más comúnmente de 53% a 65% otras como *C. glabrata* o *C. tropicalis* se identifican hasta en un 7%, mientras que otras especies como *Cándida krusei*, *Cándida guilliermondii* *C. parapsilosis* son menos frecuentes, siendo la *Cándida albicans* la especie más importante como agente etiológico de infección, con sintomatología grave (6-8).

En una investigación realizada en la ciudad de Medellín- Colombia, en la Universidad Colegio Mayor de Cundinamarca en el cual se determinó la frecuencia de portadores de *Cándida* sp, en 200 muestras de la cavidad oral de pacientes diabéticos, empleando cultivo Chromogenic *Cándida* Agar y cultivo Sabouraud, se identificó a la especie *C. albicans* como la más aislada ya que se presentó con un 94.5% de total de muestras empleadas en el estudio. (9)

En España, en la Universidad de Valencia, Departamento de Estomatología realizado en el 2007 por Ana María Martínez, se realizó un estudio en el cual participaron 150 pacientes diabéticos 94 resultaron positivos para presencia de *Cándida* spp. y 56 con cultivos negativos. En los cuales se obtuvieron los siguientes resultados: *C. albicans* con frecuencia de 43 (45,5%), *C. tropicalis* 7 (7,4%), *C. glabrata* 6 (6,4%) y *C. krusei* 2 (2,1%) (10).

A nivel local no se conoce de estudios que aporten con datos acerca de este problema de salud resultando importante desarrollar el presente trabajo investigativo denominado: “IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CÁNDIDA EN MUESTRAS OROFARÍNGEAS DE PACIENTES DIABÉTICOS CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA” con el objetivo de identificar cuáles son las especies del género *Cándida* que colonizan la cavidad orofaríngea de estos pacientes y la especie predominante en cada grupo de investigación, mediante aplicación de protocolos, procedimientos pertinentes y la difusión de resultados mediante entrega de tríptico informativo a los pacientes y personal médico que participaron en la investigación.

De las muestras orofaríngeas de pacientes diabéticos que se analizaron, mediante empleo de KOH al 20%, cultivo en medio Agar Sabouraud y Cultivo en Medio CHROMagar *Cándida*, se obtuvo como resultado que la especie predominante en el grupo de pacientes no controlados es la *Cándida albicans* (47%), seguida de *C. glabrata* (25%) *C.krusei* (15%) y *C. tropicalis* (13%). En el grupo de pacientes controlados *Cándida albicans* se observa en un 80%, seguida de *C, krusei* (13%) y *C. glabrata* (7%). No existió crecimiento de la especie *C. tropicalis*; de la cual se conoce que después de *C. albicans* es la que presenta mayor patogenicidad.

La importancia del estudio radica en conocer las especies predominantes en los pacientes diabéticos de nuestro medio e inferir que los diabéticos que están controlados tienen menor probabilidad de contraer infecciones micóticas.

4. REVISIÓN DE LITERATURA

HONGOS

1.1 DEFINICIÓN

Los hongos están formados por células eucariotas. Pueden ser unicelulares o pluricelulares, los primeros están formados por células aisladas redondas u ovaladas llamadas levaduras. Los pluricelulares están formados por células alargadas que crecen en extensión, tabicándose de un modo más o menos completo, formando largos filamentos llamadas hifas (11). Constituyen un complejo y fascinante grupo de organismos, tan grande que se calculan más de 70.000 especies, pero se cree que hay más de un millón y medio. Los hongos tienen como características común la ausencia de clorofila, por lo tanto no pueden realizar la fotosíntesis y deben nutrirse a partir de materias orgánicas ya elaboradas tienen la habilidad de descomponer organismos muertos o sus productos.

1.2 CARACTERÍSTICAS FUNDAMENTALES

Las características fundamentales son:

- Todos son heterótrofos por lo que tienen que alimentarse de materia orgánica preformada que utilizan como fuente de energía y de carbono.
- Son eucariotes, es decir, presentan un núcleo diferenciado con membrana bien organizada.
- La estructura fúngica consta de un complejo llamado talo o micelio que a su vez está constituido por múltiples filamentos o hifas o levaduras; estas últimas se reproducen por gemación y casi nunca por fisión binaria
- Tienen una pared celular formada por polisacáridos, polipeptídicos y quitina; esta pared es rígida por lo que no pueden fagocitar alimentos sino que absorben nutrimentos simples y solubles que obtienen al desintegrar polímeros mediante

enzimas extracelular llamadas despolimerasas (12). La pared celular constituye aproximadamente el 15 a 30% del peso seco de un hongo, esta proporciona rigidez, fuerza y protege a la célula del shock osmótico.

- Algunos hongos producen una cobertura externa de mucus o una cápsula más compacta, está compuesta de forma predominante por polisacáridos amorfos que pueden provocar que las células se adhieran entre sí.
- Muchas especies de hongos proliferan sólo como levaduras o mohos, pero algunas especies son dimórficas, algunos hongos patógenos presentan dimorfismo térmico; crecen como levaduras a 37°C y como mohos a temperaturas más bajas como por ejemplo de 25 a 30°C (13).

1.3 NECESIDADES FISIOLÓGICAS

Los hongos deben encontrar en los medios de cultivo lo necesario para su crecimiento y desarrollo

- a) Materias nitrogenadas como peptona,
- b) Azúcares como glucosa o maltosa que son indispensables,
- c) Un soporte sólido, como la gelosa que permite que los hongos filamentosos desarrollar micelio aéreo con órganos de fructificación un pH ácido ya que es más conveniente, el medio glucosado o maltosado de Sabouraud reúne estas características.
- d) Muchos hongos necesitan vitaminas, éstas se encuentran en las impurezas de la peptona y del azúcar en ocasiones conviene utilizar medios enriquecidos con vitaminas específicas.

1.4 REPRODUCCIÓN

La gran mayoría de los hongos producen esporas como medio para asegurar la dispersión de la especie y su supervivencia en condiciones ambientales extremas. Así

pues, la espora es la unidad reproductiva del hongo y contiene toda la información genética necesaria para el desarrollo de un nuevo hongo.

Conocemos dos tipos de esporas:

- Las **asexuales** que suelen ser resistentes a la sequedad y a la radiación, pero no especialmente al calor, por lo cual no tienen período de latencia. Pueden germinar cuando hay humedad, incluso en ausencia de nutrientes.
- Las **sexuales** más resistentes al calor que las asexuales, aunque no tanto como las endosporas bacterianas, suelen presentar latencia, germinando sólo cuando son activadas, por ejemplo por calor suave o alguna sustancia química.

En los hongos hay dos formas de reproducción: sexual y asexual, aunque en algunas especies coexisten ambas formas en el mismo organismo (holomorfo), denominándose estado perfecto o teleomorfo a la forma sexual y estado imperfecto o anamorfo a la asexual. Así, los que presentan reproducción sexual se denominan hongos perfectos y los que sólo tienen (o sólo se les conoce) reproducción asexual se denominan hongos imperfectos.

1.4.1 Reproducción asexual:

Los elementos de propagación asexual (esporas asexuales) pueden generarse de forma interna, redondeándose la célula del interior de la hifa y quedando rodeada por una gruesa pared para luego desprenderse (**clamidiosporas**) o bien formándose en el interior de una estructura denominada esporangio que al madurar se rompe liberando las esporas (**esporangiosporas**). También pueden generarse de forma externa, como una producción de la hifa en vez de transformación (**conidiosporas**) y suelen formarse en estructuras diferenciadas de la hifa (conidióforos). La variedad de las estructuras productoras de conidios es inmensa y se utilizan como característica fundamental en la clasificación.

1.4.2 Reproducción sexual:

En la formación de esporas sexuales intervienen una gran variedad de estructuras y la reproducción sexual difiere notablemente entre los diversos grupos de hongos. Así, en los Zygomycetes es por medio de unas hifas especializadas llamadas gametangios, en los Ascomycetes se producen a través de unas células con aspecto de saco denominadas asco, en los Basidiomycetes intervienen células especializadas denominadas basidios, etc.

En líneas generales dos núcleos haploides de dos células (gametos) se unen formando un huevo (cigoto) diploide que por meiosis da lugar a cuatro núcleos haploides. En este proceso suele haber recombinación genética (existe un intercambio de genes).

Si los hongos poseen en el mismo micelio núcleos complementarios capaces de conjugarse se llaman hongos homotálicos y si necesitan núcleos procedentes de micelios diferentes se llaman hongos heterotálicos. (12)

1.5. CLASIFICACIÓN DE LOS HONGOS

Una clasificación tradicional de los hongos los divide en cuatro filos bien establecidos: Zygomycota, Ascomycota, Basidiomycota y Deuteromycota.

1.5.1 ZYGOMYCOTA

Incluyen los microorganismos que producen hifas con pocos tabiques, su reproducción asexual, se lleva a cabo por esporangiosporas y su reproducción sexual está a cargo de cigosporas. Hongos de importancia que se encuentran dentro de este filo son: Rhizopus, Mucor, Absidia, Saksenaea.

1.5.2. BASIDIOMYCOTA

Incluye hongos que se reproducen de manera sexual por medio de la formación de Basidiosporas sobre una estructura especializada denominada basidio. Por lo general son patógenos de los vegetales o microorganismos medioambientales, que rara vez producen enfermedades en los seres humanos, comprenden hongos como: *Cryptococcus neoformans*.

1.5.3 DEUTEROMYCOTA

Comprenden los hongos que carecen de un ciclo de reproducción sexual y se caracterizan por sus estructuras de reproducción asexual, sobre todo los conidios

1.5.4. ASCOMYCOTA

Abarca muchos hongos que se reproducen de manera asexual por medio de la formación de conidios (esporas asexuales) y de manera sexual por la producción de ascosporas. Todos exhiben una forma sexual (teleomorfa), pero también existe una forma asexual (anamorfa), sin embargo diferentes formas teleomorfas pueden tener la misma anamorfa *Pseudallescheria boydii*. En este filo están hongos como: *Blastomyces dermatitidis* que tiene una teleomorfa denominada *Ajellomyces*, especies de *Aspergillus* y algunas especies de *Cándida* (13)

1.6 CLASIFICACIÓN PRÁCTICA DE LOS HONGOS

Los médicos encuentran útil la clasificación de los hongos en las cuatro categorías de micosis que producen.

- Micosis superficiales o cutáneas
- Micosis subcutáneas
- Micosis sistémicas
- Micosis oportunistas

Las micosis superficiales o cutáneas, son producidas por hongos que comprenden el pelo, la piel o las uñas. En este grupo están los hongos dermatofitos y agentes de infecciones como tiñas, tiña negra y piedras.

Algunos hongos producen infecciones limitadas al tejido subcutáneo dentro de estas infecciones están los micetomas, la cromoblastomicosis.

Los agentes de infecciones micóticas sistémicas pertenecen a los géneros, Blastomyces, Coccidioides, Histoplasma y Paraccocidioides, afectan principalmente a los pulmones aunque pueden diseminarse a otros órganos.

Cualquiera de los hongos puede considerarse como oportunista. Las infecciones que producen afectan sobre todo a los pacientes con algún tipo de compromiso de su sistema inmunitario sea por una enfermedad subyacente (como diabetes mellitus) o por una agente inmunosupresor. Los encontrados con mayor frecuencia son: Aspergillus, Zigomycetes, Cándida y Criptococcus (14).

HONGOS OPORTUNISTAS

No existe una lista precisa de hongos patógenos ni hay especificidad de ninguno de ellos por lo que respecta a órganos o tejidos. Casi cualquier hongo saprófito del suelo o los que constituyen la flora normal de levaduras cutáneas, puede transformarse en parásito en un huésped inmunocomprometido total o parcialmente por ello los hongos oportunistas invadirán (15). Las especies de hongos que forman parte de la microflora ambiental o son comensales de la piel y mucosa, habitualmente son eliminadas por el sistema inmune celular. Cuando hay deficiencia de la respuesta inmune, alteraciones de la flora bacteriana por suministro de antibióticos o la existencia de enfermedades de base en el paciente, como por ejemplo la diabetes o enfermedades mieloproliferativas con neutropenia, pueden causar una infección diseminada fatal para el paciente (12).

2.1 HONGOS OPORTUNISTAS DEL GÉNERO CÁNDIDA

Los hongos del género *Cándida*, son levaduras es decir que son de talo unicelular, este género abarca más de doscientas especies sumamente ubicuas y con características muy diversas, pues algunas de ellas pueden tener un estado teleomorfo (sexuado).

Desde el punto de vista médico-odontológico, la especie más patógena es la *C. albicans*, pero en los últimos años se han agregado, *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata* y *C. parapsilosis* (7).

El género *Cándida* comprende más de 150 especies, cuya principal característica es la ausencia de forma sexual, con excepción de algunas especies micóticas. Son clasificadas como levaduras, las cuales corresponden a hongos con un modo de desarrollo predominantemente unicelular (16). Solamente una docena de las especies pertenecientes al género *Cándida* poseen la facultad de adaptarse a una temperatura de 37°C y pueden ser ocasionalmente patógenas para el hombre, estas son entre otras: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. kefyr (pseudotropicalis)*, *C. krusei*, *C. guilliermondi*, *C. parakrusei*, *C. zeylanoides*, *C. stellatoidea* y *C. brumptii*.

Suele presentarse como una célula oval levaduriforme de 2 a 4 micras, con paredes finas; sin embargo, en tejidos infectados también se han identificado formas filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y pseudohifas, que son células alargadas de levadura que permanecen unidas entre sí (17).

Las levaduras o blastosporas son microorganismos eucarióticos, las cuales se reproducen asexualmente por un proceso específico de división celular conocido como gemación. Este proceso de división implica la producción de nuevo material celular proveniente de la superficie de la blastospora, cuando el brote o yema ha crecido y se encuentra en su tamaño óptimo, se suscita la división celular y se forma un tabique o septo entre las dos células. La forma filamentososa del hongo (hifa), es una estructura microscópica tubular, la cual contiene múltiples unidades celulares divididas por septos y puede surgir a partir de blastosporas o de hifas existentes. Esta crece continuamente por extensión apical. La apariencia microscópica de todas las especies de *Cándida* es similar; todas las levaduras son Gram positivas, pero en algunas ocasiones la forma de las blastosporas puede variar de ovoide a elongada o esférica. Microscópicamente *C. albicans* presenta dimorfismo, el cual es una transformación de la forma ovoide de las blastosporas (levaduras) gemantes a hifas (18).

2.2 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Reino:Hongo

División:Deuteromycota

Clase:Blastomycetes

Familia:Cryptococcaceae

Género:Cándida

Especies:*C. albicans* (como la más frecuente y virulenta) y otras especies

C. glabrata

C. Krusei

C. tropicalis.

2.2.1 CÁNDIDA ALBICANS

Generalidades

Se encuentra como saprofita comensal del tracto gastrointestinal de la boca (18% de personas normales), el recto, la vagina(13%), sin embargo no se lo puede considerar como saprofita de la flora de la piel normal y allí siempre indicará un estado patogénico primario o secundario (19).

Patogenicidad

Cándida albicans presenta una serie de factores de virulencia que facilitan la colonización y la infección del hospedador. Entre ellos cabe mencionar el dimorfismo o capacidad del hongo para desarrollar un crecimiento levaduriforme y filamentoso, el cual favorece la evasión de los mecanismos defensivos del hospedador. También existen otros tipos de factores de virulencia, tales como:

- 1) Adhesinas: que permiten la unión de la célula fúngica a los receptores del hospedador o a materiales plásticos utilizados en medicina, como las prótesis y los catéteres.
- 2) Proteinasas y fosfolipasas: Las cuales corresponden a enzimas que favorecen la diseminación por los tejidos del hospedador.
- 3) Tigmotropismo: permite encontrar discontinuidades entre las células y penetrar en los tejidos
- 4) Producción de toxinas y sustancias inmunosupresoras (20).

Características Biológicas

C. albicans suele presentarse como una célula oval levaduriforme de 2 a 4 micras, con paredes finas; sin embargo, en tejidos infectados también se han identificado formas filamentosas de longitud variable, con extremos redondos de 3 a 5 micras de diámetro y

seudohifas, que son células alargadas de levadura que permanecen unidas entre sí. Se presentan aisladas por lo general, o gemando, en cadenas cortas y en racimos.

La forma filamentosa del hongo (hifa), es una estructura microscópica tubular, la cual contiene múltiples unidades celulares divididas por septos y puede surgir a partir de blastosporas o de hifas existentes. Esta crece continuamente por extensión apical (21).

La apariencia macroscópica es de colonias de color blanco a crema, redondas, con bordes regulares y centro algo prominente, de aspecto brillante o céreo y superficie lisa y húmeda. Su consistencia es cremosa (22).

2.2.2 CÁNDIDA GLABRATA

Generalidades.

Es una levadura saprófita, que forma parte de la microbiota comensal. Inicialmente fue clasificada como *Cryptococcus glabratus* (1917) y posteriormente reclasificada como *Torulopsis glabrata* (1938) debido a que sus blastoconidios no producen pseudohifas o hifas verdaderas. A pesar de estas características, finalmente ha sido clasificada dentro del género *Cándida* como *C. glabrata* (desde 1978).

Aunque históricamente este microorganismo fue considerado como no patógeno, con el uso de la terapia antifúngica de amplio espectro, la frecuencia de infecciones superficiales y profundas por este agente ha aumentado significativamente en los últimos años, por lo que se considera un patógeno emergente. Dependiendo del sitio de la infección, *C. glabrata* generalmente es el segundo o tercer agente productor de candidiasis después de *C. albicans*.

Patogenicidad.

Aunque esta levadura no filameta, lo que conduce a pensar que es menos virulenta, sí produce proteinasas y presenta hidrofobicidad en su superficie celular, similar a *C. albicans* facilitando su adherencia. Además, la alta mortalidad asociada a infecciones

por esta levadura y su prevalencia apoyan la idea que este microorganismo sí es patogénico

Características biológicas

Los blastoconidios de esta levadura son considerablemente más pequeños, midiendo de 1 a 4 μm , respecto a los de *C. albicans* que miden de 4 a 6 μm . En Chromagar Cándida TM habitualmente presenta color púrpura. Otra característica importante es que *C. glabrata* sólo asimila los azúcares glucosa y trealosa, a diferencia de la mayoría de las otras especies de Cándida que asimilan más azúcares, y no filamenta en plasma a 37 °C. Cabe señalar que el genoma de *C. glabrata* es haploide (*C. albicans* es diploide), lo cual facilita la rápida adquisición de resistencia secundaria a azoles (23).

2.2.3 CÁNDIDA KRUSEI (23)

Generalidades

C. krusei normalmente aparece asociada con algunas formas de diarrea infantil y, ocasionalmente, con infecciones sistémicas. Se ha podido encontrar colonizando los tractos gastrointestinal, respiratorio y urinario de pacientes con granulocitopenia. Los aislamientos ambientales se han realizado de la cerveza, derivados lácteos, piel, encurtidos, heces de animales y aves.

Características Biológicas

Las colonias son de color blanco, opacas, blandas, de superficie lisa con algunos pliegues y un margen irregular bordeado con pseudomicelios. La morfología microscópica de células ovoides, elongadas y cilíndricas, predominantemente pequeñas, (2,2-5,6 x 4,3-5,2 μm); aparecen aisladas gemando y en cadena. Se observan también células largas, algunas curvadas. *C. Krusei* desarrolla una película

gruesa a través del caldo y sube por un lado del tubo. Las blastosporas aparecen en racimos y cadenas a lo largo de las pseudohifas.

2.2.4 CÁNDIDA TROPICALIS

Generalidades

Cándida tropicalis es una de las principales causas de septicemia y candidiasis diseminada, especialmente en pacientes con linfoma, leucemia y diabetes. Es el segundo patógeno médico más frecuentemente encontrado, próximo a *C. albicans*, y se encuentra formando parte de la flora normal mucocutánea. Variantes de *C. tropicalis* sacarosa negativa se han encontrado en aumento en casos de candidiasis diseminada. Se han efectuado aislamientos ambientales en heces, suelo y langostinos.

Características Biológicas

C. tropicalis desarrolla colonias de color blanco a crema o blanco grisáceo mate, blandas, de superficie lisa y cremosa o plegada y resistente. Presentan un borde micelial bien definido. La morfología microscópica hace referencia a células globosas, poco o muy ovaladas (3.0-5.5 x 4.0-9.0 μm) sin cápsula. En medios de cultivo líquidos se forma una película delgada que puede tener atrapadas burbujas de gas. En PZB forma un pseudomicelio abundante. Las pseudohifas de *C. tropicalis* portan blastosporas simples en cadenas cortas o en racimos. Algunas cepas de *C. tropicalis* producen clamidoconidios, sobretudo en el aislamiento inicial. Estos difieren un poco de los de *C. albicans*, y tan solo no suelen tener célula de sostén. La producción de estos conidios cesa en el subcultivo, mientras que esta es una característica constante de *C. albicans* (22).

PATOLOGÍA

3.1 CANDIDIASIS

Micosis primaria o secundaria ocasionada por levaduras endógenas y oportunistas del género *Cándida*, especialmente *C. albicans*. Las manifestaciones clínicas son localizadas, diseminadas o sistémicas; pueden afectar la piel, mucosas estructuras profundas y órganos internos. Las alteraciones histopatológicas varían desde la inflamación mínima hasta la supuración o granuloma. La evolución es aguda, subaguda y crónica.

Síntomas.

Antes de entrar en materia expliquemos la diferencia existente entre signo y síntoma: Un síntoma es una sensación subjetiva que no puede ser evaluada u observada de forma objetiva, mientras que un signo es un hecho que puede ser constatado objetivamente, por ejemplo, la inflamación es un signo y el dolor un síntoma.

Los síntomas más característicos de una candidiasis son:

- + Picor
- + Ardor
- + Eritema
- + Placas blanquecinas a nivel bucal
- + Es posible que se produzcan pequeñas úlceras
- + Es posible observar pequeños sangrados (10)

3.1.1 INFECCIONES POR *CÁNDIDA SPP.*

La prevalencia de las infecciones por *Cándida* ha aumentado a nivel mundial. Numerosos estudios han demostrado que varias especies de *Cándida* poseen una multitud de mecanismos de virulencia que conducen a la colonización y a la infección cuando se producen las condiciones adecuadas. Los progresos realizados en la

comprensión de los mecanismos de adhesión a la superficie celular y a la saliva son impresionantes pero no concluyentes (24).

Las biopelículas fúngicas parecen compartir algunas propiedades con las biopelículas bacterianas, incluyendo la heterogeneidad de su estructura y la susceptibilidad disminuida a los antimicrobianos y biocidas. Las biopelículas de *C. albicans* poseen una heterogeneidad estructural y manifiesta una típica arquitectura de micro colonias con canales de agua similares a los biopelículas bacterianas. Douglas, L (2002), cita dos factores que pueden afectar la formación de las biopelículas de hongos “in vitro” entre ellos menciona especies y variedades de Cándida, la naturaleza de las superficies colonizadas, la presencia de una biopelícula acondicionante, flujo de líquidos y bacterias (25).

3.1.2 CÁNDIDA SPP. COMO AGENTE DE INFECCIONES ORALES.

Las levaduras son patógenos oportunistas, es decir, que causan infecciones cuando el ambiente se vuelve favorable. La candidiasis oral es una infección oportunista común, tanto en los individuos médicamente comprometidos como en los saludables. Aunque *C. albicans* es patógeno se producen infecciones por distintas especies de Cándida tales como *C. krusei*, *C. glabrata* y *C. dubliniensis*. *C. albicans* puede causar infecciones de las mucosas, tales como estomatitis, sobre todo, en la dentadura, en portadores de prótesis de acrílico que pueden actuar como reservorios aumentando el riesgo de colonización por este organismo, también se han encontrado especies de Cándida en la placa y saliva (26).

La microbiota de la cavidad oral humana puede ser muy diversa, abarca alrededor de 700 especies bacterianas, de las cuales aproximadamente la mitad aún no ha sido cultivadas “in vitro”. En los adultos mayores la cavidad oral es colonizada por una pequeña parte de la microbiota residente (25).

3.1.3 CANDIDIASIS ORAL

Causas de la candidiasis oral

La candidiasis oral se contrae cuando *Cándida*, normalmente presente en el cuerpo, crece en forma descontrolada. En los bebés, *Cándida* causa candidiasis oral debido a que el sistema inmunitario de los bebés todavía no es lo suficientemente fuerte como para controlar el crecimiento del hongo en forma de levadura. Las personas mayores tienen candidiasis oral debido a que su sistema inmunitario puede debilitarse con la edad.

Algunas personas tienen candidiasis oral cuando toman determinados medicamentos, como antibióticos o corticosteroides inhalados. Las personas que tienen problemas de salud, como diabetes o VIH, también son más propensas a contraer candidiasis oral (1).

3.2 DIABETES MELLITUS (DM)

3.2.1 DEFINICIÓN

Grupo de enfermedades o síndromes metabólicos caracterizados por la aparición de hiperglucemia secundaria a defectos de la secreción de insulina, de la acción de la insulina o ambas. Conforme disminuye la acción de la insulina y aumenta la hiperglucemia superando el dintel renal de absorción de glucosa, la clínica de la enfermedad se hace manifiesto y el paciente notará lo que se conoce como síntomas cardinales de la DM, poliuria, polidipsia y polifagia (3).

También a la diabetes mellitus se la puede definir como el desorden metabólico de múltiples etiologías, caracterizado por el aumento de glucosa fuera de sus valores normales que son de 70-100 mg/dl. Altera al metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas, resulta por defectos de secreción de Insulina (3).

3.2.2 CLASIFICACIÓN DE DIABETES MELLITUS

En el año 2000 el Comité de Expertos sobre el diagnóstico y clasificación publica en Diabetes Care una actualización sobre nuevos conceptos y clasificación de la Diabetes Mellitus basados en sus avances de su conocimiento desde la anterior publicación plantearon los siguientes tipos de Diabetes:

I. Diabetes Tipo I (destrucción de células β)

- a) De mecanismo inmune
- b) Idiopática

II. Diabetes Tipo II (que puede oscilar entre una predominante resistencia a la insulina con relativa deficiencia de la hormona y un predominante defecto secretor asociado a resistencia insulínica.)

III. Otros tipos específicos;

- a) Defectos genéticos de la función de las células beta
- b) Defectos genéticos en la acción de la insulina
- c) Enfermedades del páncreas exócrino.
- d) Endocrinopatías
- e) Inducida por drogas o productos químicos
- f) Infecciones
- g) Formas incommunes de diabetes de mecanismo inmune
- h) Otros síndromes genéticos asociados en ocasiones, a diabetes.

IV. Diabetes Gestacional (GDM) (27)

A continuación se describirá los tipos de diabetes más comunes:

3.2.1.1 Diabetes Tipo I

La diabetes mellitus insulino dependiente habitualmente se inicia las dos primeras décadas de la vida. Es una enfermedad crónica, determinada genéticamente con la implicación de mecanismos autoinmunes, así como factores ambientales particularmente virus produciendo una destrucción de la célula beta de los islotes pancreáticos, disminuyendo la producción de insulina, originando una hiperglucemia (28). Representa entre el 5- 10 % de la DM y engloba a los antiguos conceptos de Diabetes infanto- juvenil se reconocen 2 subtipos.

1. Diabetes mellitus Tipo1 autoinmune o DM mediada por inmunidad.

En la actualidad se ha establecido que la diabetes Tipo I es una enfermedad autoinmune determinada genéticamente y que su sintomatología es la consecuencia de un proceso de destrucción de mecanismo autoinmune de las células beta productoras de insulina. Al ser destruida exclusivamente la célula beta pancreática, esta diabetes es el modelo de enfermedad autoinmune organoespecífica (27). Esta forma representa al 95% de la DM de tipo 1, aparece como consecuencia de una destrucción autoinmune de las células β del páncreas. En fases precoces de la enfermedad cuando todavía no hay criterios diagnósticos de DM pero si de otras anomalías del metabolismo de la glucosa, aparecen en la sangre diferentes tipos de anticuerpos, unos dirigidos contra las propias células (ICA), otros contra la insulina. Estos anticuerpos uno o más aparecen ya en la fase de alteración de la glucemia en ayunas.

Los pacientes desarrollan la enfermedad en su mayoría antes de los 25 años de edad, la velocidad de la aparición de la enfermedad va a depender de la velocidad de destrucción de las células β . En niños y adolescentes la destrucción suele ser más rápida (3).

Los factores desencadenantes son aún inciertos, se han investigado virus y agentes químicos. Se ha asociado con distintos virus sobre todo con el picornavirus y

fundamentalmente con el virus coxsackie del grupo B, aunque sin datos totalmente concluyentes. La asociación más clara ocurre en el síndrome de Rubéola congénita y en la infección congénita por citomegalovirus. En el síndrome de rubéola congénita la diabetes surge de 5 -20 años después en el 12 al 20% de los afectados.

2. Diabetes Mellitus Tipo 1 Idiopática o DM idiopática

Esta forma de diabetes insulino dependiente, no determinada por mecanismos autoinmunes, es muy rara y solo se encuentra en países africanos y asiáticos. Tiene un carácter fuertemente hereditario, puede ser causa de cetoacidosis y exhibir diversos grados de deficiencia insulínica (27).

3.2.1.2 Diabetes Tipo II

Es el tipo más frecuente el del 90 a 95 % de las personas con DM. Patogénicamente se caracteriza por la presencia de resistencia a la acción periférica de la insulina, secreción de insulina defectuosa o ambas, en el momento del diagnóstico suele haber una mezcla de ambas alteraciones y, etiológicamente, lo característico es la multifactorialidad con ausencia de destrucción autoinmune con ausencia de destrucción autoinmune de las células β .

La obesidad abdominal está presente en más del 85 % de los diabéticos tipo 2. Presentada más en personas con sedentarismos, obesos y con malos hábitos alimenticios

No hay Acs que destruyan pero si existe una resistencia a la producción de insulina o esta se encuentra disminuida (3).

La susceptibilidad genética juega un papel esencial en el desarrollo de diabetes mellitus Tipo 2, pero la actual pandemia de esta enfermedad refleja que los cambios en el estilo de vida (incremento de la ingesta, disminución de la actividad física) que contribuyen al sobrepeso/obesidad, constituyen potentes factores de riesgo (29).

3.2.1.3 Diabetes Gestacional

Se define como una intolerancia a los hidratos de carbono de gravedad variable que comienza o se reconoce por primera vez durante el embarazo actual lo que significa que la intolerancia a la glucosa pudo haber precedido al embarazo pero ni el médico ni el paciente la identificó (30).

3.3 MANIFESTACIONES CLÍNICAS DE LA DIABETES A NIVEL BUCAL

Ser diabético no significa tener lesiones en la cavidad oral, sino que es un estado predisponente las manifestaciones bucales más frecuentes son las siguientes:

3.3.1 Lesiones gingivales.

Es la primera etapa de la etapa periodontal, y a menudo ocurre por una higiene deficiente que favorece la acumulación de placa bacteriana sobre las encías y dientes. Al principio consiste en una ligera inflamación, que luego evoluciona a un aspecto eritematoso, con sangrado y dolor. Esta situación es reversible sólo con intensificar y corregir la higiene oral.

3.3.2 Lesiones periodontales

Se manifiesta con las mismas características que en individuos sanos, con la diferencia de la presencia de abscesos periodontales.

3.3.3 Infecciones micóticas

Una de las características importantes en los individuos diabéticos es la predisposición a infecciones por *Cándida albicans*, un hongo oportunista que se encuentra dentro de la flora bucal como microorganismo saprófito.

El equilibrio en el que se halla puede romperse debido a las variables inmunológicas del paciente, el repetido uso de antibióticos o también los estados de cetoacidosis.

Muchas veces la presentación diabética se acompaña de candidiasis aguda que se ubica sobre el dorso de la lengua, paladar duro y blando. Esta también puede aparecer en los genitales (31).

4. DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO PARA IDENTIFICACIÓN DE HONGOS

Existen diversos análisis que se realizan para llegar a la identificación de estructuras micóticas.

4.1 Examen directo:

Examen en fresco: La muestra debe ser tomada de la pared oral puede ser sometida a observación microscópica con KOH al 10 a 20% o preparaciones teñidas (Gram) que permiten reconocer blastoconidias, filamentos, pseudohifas de *Cándida* spp. El examen microscópico directo es específico pero menos sensible.

4.2 Cultivo:

Se logra aislar diferentes especies de *Cándida* además de sensibilidad a diferentes anti fúngicos (antifungigrama con lecturas a las 24 a 48 horas de incubación), no requiere medios exigentes, entre estos se tiene al Agar dextrosa de Sabouraud (Bioxón), durante 7 días a 37° C o, Agar Base, también se realiza cultivos con CHROMagar *Cándida* para identificación de especies según el color de las colonias, *C. albicans* produce colonias verdes y tiene la capacidad de producir tubos germinativos (prueba fisiológica) y clamidoconidias en agar leche con Tween 80

El cultivo en medio Inray Colorex Yeast: *C. albicans* da colonias de color verde o verde azulado; *C.glabrata* rosado oscuro y *C.krusei* rosado oscuro con bordes blancos; *C.tropicalis* azul oscuro con halo púrpura (14).

4.2.1 Medio de Cultivo Agar Sabouraud

Medio de cultivo recomendado para el aislamiento y desarrollo de hongos, particularmente los asociados con infecciones cutáneas (piel, pelo, etc.). En el medio de cultivo, la pluripeptona y la glucosa, son los nutrientes para el desarrollo de microorganismos. El alto contenido de glucosa, la presencia de cloranfenicol y el pH

ácido, favorecen el crecimiento de hongos por sobre el de bacterias. Además, al medio de cultivo, pueden agregarse otros agentes selectivos de crecimiento.

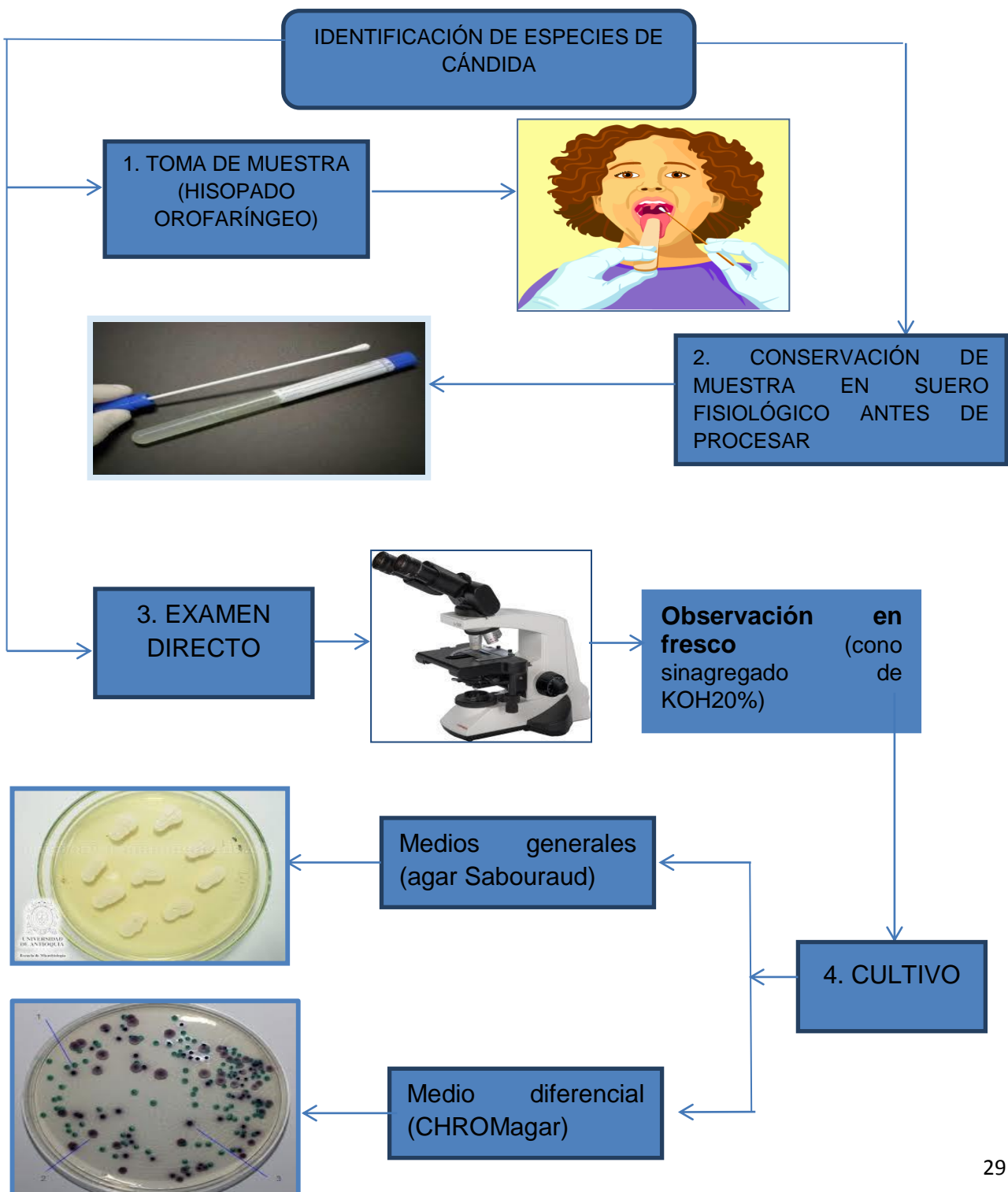
Fórmula (en gramos por litro)		Instrucciones
Pluripeptona	10.0	Suspender 65 g del polvo por litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y mezclar hasta uniformar. Calentar agitando frecuentemente y hervir 1 minuto hasta disolver. Distribuir y esterilizar 15 minutos a 118-121°C. Mantener en lugar fresco, pues la exposición al calor hidroliza los componentes. Distribuir en placas o en tubos con cierre hermético
Glucosa	40.0	
Cloranfenicol	0.05	
Agar	15.0	
pH final: 5.6 ± 0.2		

4.2.2 Medio CHROMagar

CHROMagar Cándida es un medio diferencial útil para el desarrollo y el aislamiento de colonias y la diferenciación de las especies de Cándida encontradas en muestras clínicas. Cada especie reacciona con un sustrato cromógeno que confiere un color característico a la colonia. Cuando se lo combina con las características de las colonias es posible tener una identificación presuntiva. Sand –Millan, Ribacoda y Ponton evaluaron 1.537 aislamientos de levaduras e informaron que después de 48 horas de incubación a 37°C, demostró una sensibilidad y especificidad cercana al 100% para *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei*. Otra evaluación realizada demostró la identificación correcta de más del 95% de los aislamientos clínicos de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C.*

krusei. En el caso de *Cándida glabrata* se observó una sensibilidad similar. Además se evaluó el CHROMagar, como un medio de cultivo de aislamiento y se encontró que detectaba cultivos mixtos de especies de *Cándida* (14).

4.3. PROCEDIMIENTOS PARA IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CÁNDIDA (12)



5. MATERIALES Y MÉTODOS

TIPO DE ESTUDIO:

Descriptiva y transversal.

UNIVERSO:

200 pacientes diabéticos que acudieron al Hospital Isidro Ayora de la ciudad de Loja en el periodo Abril- Mayo del 2014

MUESTRA:

Se realizó el estudio en 61 pacientes diabéticos, de los cuales 33 fueron diabéticos no controlados y 28 diabéticos controlados.

ÁREA DE ESTUDIO:

Área del Departamento de Medicina Interna y Club de Diabéticos del Hospital Regional Isidro Ayora de Loja.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Criterios de inclusión:

- Pacientes diabéticos del Departamento de Medicina Interna y Club de Diabéticos del Hospital Regional Isidro Ayora de Loja que no estén recibiendo tratamiento antimicótico en el momento de toma de muestra.
- Pacientes diabéticos que brindan su consentimiento para formar parte del estudio.

Criterios de exclusión:

Pacientes que no cumplieron con las condiciones adecuadas antes de la toma de la muestra.

PROCEDIMIENTOS

- ✚ Oficio dirigido a la Gerente del Hospital Dra. Yadira Gavilanes para solicitar la autorización correspondiente para la obtención de la muestra.(**anexo 1**)
- ✚ Permiso correspondiente concedido por parte de las autoridades del Hospital. **(anexo 2)**
- ✚ Oficio emitido por el Dr. Daniel Pacheco, Coordinador de Docencia e Investigación, dirigida al Lic. Ángel Luzón, responsable del Laboratorio Clínico del HIAL, para indicar que el estudio tiene la respectiva autorización para efectuarlo **(anexo 3)**
- ✚ Obtención del Consentimiento informado por parte de los pacientes que formaron parte del presente estudio. **(anexo 4)**
- ✚ Elaboración de Guía para preparación del paciente previa a la obtención de muestra **(anexo 5)**
- ✚ Obtención de muestras con hisopado orofaríngeo, transporte y conservación de muestras, mediante empleo de suero fisiológico y gradilla para evitar pérdida de muestra.**(anexo 6)**

Realización de análisis de muestras:

- ✚ Examen Directo, análisis microscópico en fresco de la muestra aplicando KOH al 20% el cual permitió la destrucción de células despejando el campo para observación más nítida de estructuras fúngicas **(Anexo 7)**
- ✚ Preparación y siembra de la muestra en los medios de cultivo Agar Sabouraud y agar específico (Chrom-agar Cándida). **(Anexo 8)**

- ✚ Observación de crecimiento de colonias, teniendo en cuenta características macro y microscópicas de las especies de Cándida en medio Agar Sabouraud
- ✚ Identificación de especies de Cándida medio CHROM-agar específico.
- ✚ Registro de resultados obtenidos en el registro interno de resultados de la investigación **(anexo 9)**

Luego del procesamiento de las muestras e identificación de las especies de Cándida se procedió a la confirmación, validación y entrega de resultados.

- ✚ Confirmación de resultados, el cual se realizó con el empleo del medio de cultivo específico CHROMagar el cual fue una prueba confirmatoria que verificó lo anteriormente observado e identificado en el examen macro-microscópico (KOH y Agar Sabouraud)
- ✚ Validación de resultados mediante realización de control externo en donde se escogieron dos muestras al azar y se enviaron al “Laboratorio de Microbiología y Clínico San Pablo” de la Dra. Mgs. María Elizabeth Betancourt, los cuales están dentro del rango del resultado obtenido. **(anexo 10)**
- ✚ Reporte del examen para entregar al paciente los resultados obtenidos para que en caso de ser requerido sean tratados por el médico encargado. **(anexo 11)**
- ✚ Difusión de los resultados a pacientes diabéticos mediante entrega de tríptico.**(anexo 12)**

PLAN DE TABULACIÓN DE DATOS

Para la tabulación de los datos obtenidos durante todo el proceso de análisis se utilizó el programa informático Microsoft Excel 2010, el cual permitió presentar los resultados de manera ordenada en tablas y gráficos estadísticos, para demostrar de esta manera los datos con su respectiva frecuencia y porcentaje permitiéndonos así poder efectuar más fácilmente una interpretación de los mismos.

6. RESULTADOS

CUADRO N° 1

TOTAL DE MUESTRAS OROFARÍNGEAS ANALIZADAS DE PACIENTES DIABÉTICOS CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS

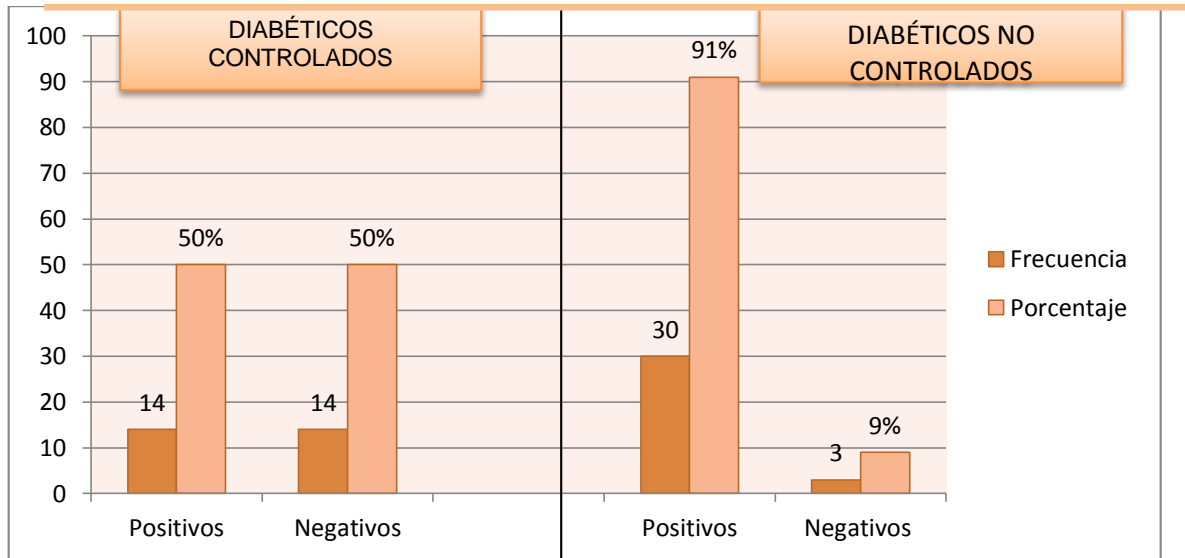
GRUPO DE ESTUDIO	CULTIVO	FRECUENCIA	porcentaje
Diabéticos Controlados	Positivos	14	50%
	Negativos	14	50%
	TOTAL	28	100%
Diabéticos No controlados	Positivos	30	91%
	Negativos	3	9%
	TOTAL	33	100%
TOTAL DE MUESTRAS		61	100%

Fuente: muestras orofaríngeas de pacientes diabéticos controlados y no controlados.

Elaborado por: Tatiana Astudillo Yépez

FIGURA N° 1

TOTAL DE MUESTRAS OROFARÍNGEAS ANALIZADAS DE PACIENTES DIABÉTICOS CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS



Fuente: muestras orofaríngeas de pacientes diabéticos controlados y no controlados.

Elaborado por: Tatiana Astudillo.

Análisis e interpretación: Mediante análisis de muestras orofaríngeas se pudo identificar que de los 61 pacientes diabéticos que participaron en el estudio, los pacientes diabéticos no controlados presentan mayor número cultivos positivos, mientras que los pacientes diabéticos controlados presentan igual cantidad tanto de cultivos positivos como negativos.

CUADRO N° 2

ESPECIES DE CÁNDIDA AISLADAS EN MUESTRAS OROFARÍNGEAS DE PACIENTES DIABÉTICOS NO CONTROLADOS

ESPECIES	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<i>C. albicans</i>	25	47%
<i>C. glabrata</i>	13	25%
<i>C.krusei</i>	8	15%
<i>C.tropicalis</i>	7	13%
TOTAL	53*	100%

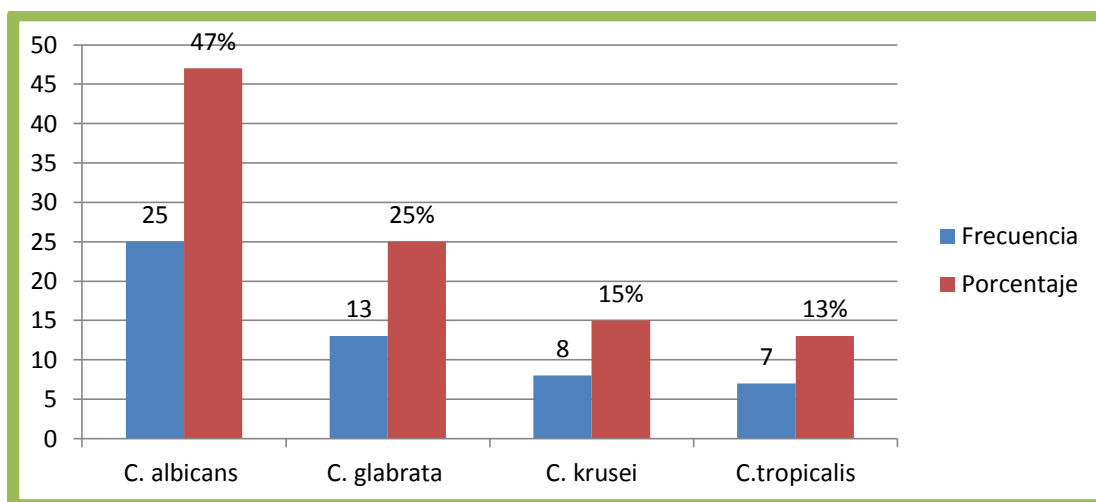
Fuente: muestras orofaríngeas de pacientes diabéticos controlados y no controlados.

Elaborado por: Tatiana Astudillo Yépez.

Observación: *El total de la tabla no presenta similitud al total de cultivos positivos debido a que varios pacientes diabéticos no controlados no solo presentaron crecimiento de una sola especie sino de varias.

FIGURA N° 2

**ESPECIES DE CÁNDIDA AISLADAS EN MUESTRAS OROFARÍNGEAS DE PACIENTES
DIABÉTICOS NO CONTROLADOS**



Fuente: muestras orofaríngeas de pacientes diabéticos controlados y no controlados.

Elaborado por: Tatiana Astudillo Yépez.

Análisis e interpretación: De los cultivos positivos de pacientes diabéticos no controlados se puede identificar que la especie predominante es la *C. albicans* la cual está presente en un 47%, seguida de las otras especies en un menor porcentaje

CUADRO N° 3

ESPECIES DE CÁNDIDA AISLADAS EN MUESTRAS OROFARÍNGEAS DE PACIENTES DIABÉTICOS CONTROLADOS

ESPECIES	FRECUENCIA	PORCENTAJE
<i>C. albicans</i>	12	86%
<i>C. krusei</i>	2	14%
<i>C. glabrata</i>	1	7%
TOTAL	15*	100%

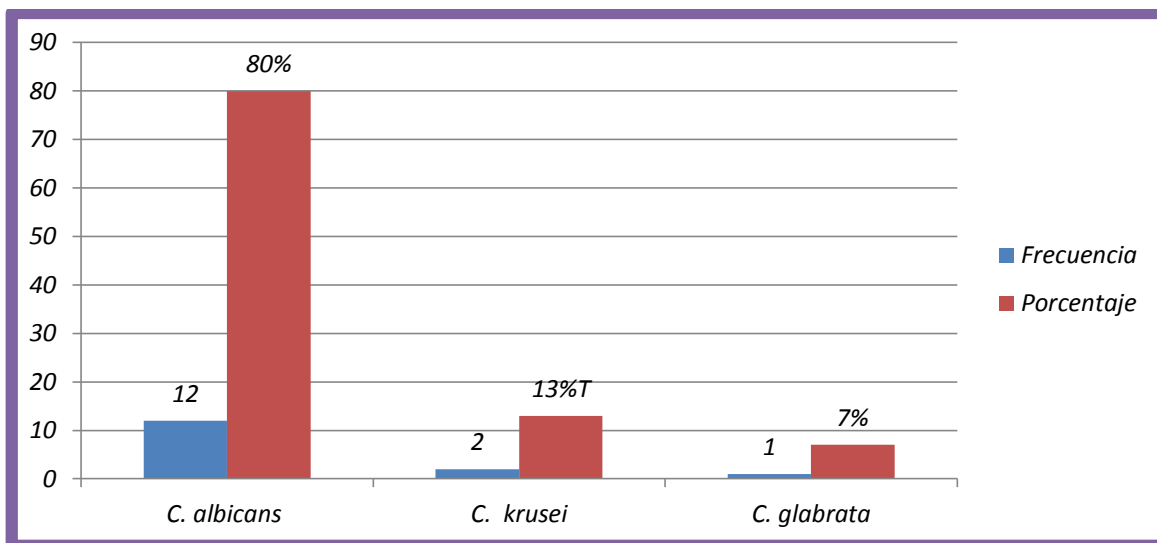
Fuente: muestras orofaríngeas de pacientes diabéticos controlados y no controlados.

Elaborado por: Tatiana Astudillo Yépez.

Observación: Total de la tabla no coincide con el total de cultivos positivos de los pacientes diabéticos controlados debido a que un paciente presento crecimiento de dos especies.

FIGURA N° 3

ESPECIES AISLADAS EN MUESTRAS OROFARÍNGEAS DE PACIENTES DIABÉTICOS CONTROLADOS



Fuente: muestras orofaríngeas de pacientes diabéticos controlados y no controlados.

Elaborado por: Tatiana Astudillo Y.

Análisis e interpretación: Mediante realización de cultivo de las muestras a analizarse se pudo identificar que en pacientes diabéticos controlados existe una especie predominante que es la *Cándida albicans* con un porcentaje de 80%, además no existió crecimiento de *C. tropicales*.

7. DISCUSIÓN

La candidiasis oral es la enfermedad infecciosa, ocasionada por el crecimiento de las colonias de *Cándida* y la penetración de las mismas en los tejidos orales cuando las barreras físicas y las defensas del huésped se encuentran debilitadas (32).

La aparición de candidiasis implica la invasión de la superficie de la mucosa por el hongo. *C. albicans*; es el germen aislado con más frecuencia, no obstante, otras especies como *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. krusei* se han aislado asociadas a candidiasis oral. La existencia de dos o más especies de *Cándida* en la misma muestra tampoco es un hecho infrecuente (un 10% de los casos); en la mayoría de los pacientes, la candidiasis se produce a partir de un reservorio endógeno (oral o digestivo) del propio enfermo (33).

La candidiasis es frecuente en nuestra población y de manera especial en personas cuyo sistema inmunitario está disminuido por diversos motivos entre ellos, padecer de enfermedades crónicas, como es el caso de la Diabetes Mellitus, pacientes en los cuales al ser portadores del hongo *Cándida* y no mantener un adecuado control metabólico de la enfermedad desarrollarán con mayor frecuencia infecciones micóticas y por ende candidiasis.(2)

Por la importancia de este problema de salud se consideró oportuno realizar la presente investigación, en donde se presenta el aporte laboratorial en la detección temprana de candidiasis orofaríngea para así evitar la progresión de la enfermedad y que ésta evolucione a etapas en la cual ocasione daño y malestar severo al paciente diabético.

El tema “IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE *CÀNDIDA* EN MUESTRAS OROFARÍNGEAS DE PACIENTES DIABÉTICOS CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA”, se desarrolló utilizando procedimientos preanalíticos, analíticos y postanalíticos.

Posterior a la recolección de muestras orofaríngeas se realizó la identificación de especies de *Cándida* en pacientes diabéticos no controlados del Departamento de Medicina Interna y diabéticos controlados del Club de Diabéticos de Hospital Isidro Ayora de la Ciudad de Loja; mediante aplicación de técnicas y métodos como: exámen microscópico en fresco, cultivo primario Agar Sabouraud y cultivo diferencial CROMagar *Cándida*; identificando como principales especies en el grupo de pacientes diabéticos no controlados: *Cándida albicans* (47%), *C. glabrata* (25%), *C. krusei* (15%) y finalmente *C. tropicalis* (13%). En el grupo de pacientes diabéticos controlados las especies presentes fueron: *Cándida albicans* (80%), *C. krusei* (13%), *C. glabrata* (7%). Destacando que en los dos grupos de estudio la especie predominante es la *C. albicans*. No hubo crecimiento de la especie *C. tropicalis* en el grupo de pacientes diabéticos controlados.

Confirmando lo que dice la literatura, respecto a que la *C. albicans* es la especie presente en la mayoría de los casos de infección por hongos en diabéticos recordando así mismo que esta especie es la que ostenta mayor virulencia que otras especies de su mismo género, debido a que posee una manoproteína que es una adhesina cuya síntesis se incrementa en medios que contiene altas concentraciones de galactosa o de sacarosa a 37°C, y puede adherirse a las células epiteliales es a través de la fibronectina que es una glicoproteína que se encuentra en el plasma sanguíneo y en el tejido intersticial y a la cual se adhieren gran cantidad de microorganismos (34).

De acuerdo a un estudio realizado en la ciudad de Granada, en la Universidad de Granada Departamento de Estomatología en la Facultad de Odontología, realizada por Carlos Manuel Ugalde; en el cual se identificó la prevalencia de especies de *Cándida* en pacientes diabético tipo 2, la muestra fue tomada en 199 personas y se obtuvieron los siguientes resultados: 146 cultivos fueron negativos y 53 fueron positivos. Las principales especies de *cándida* aisladas fueron: *C. albicans* con un 85%, *C. tropicalis* 4% y finalmente *C. glabrata* con un 12% (35).

Estos datos concuerdan con el presente estudio en las principales especies de *Cándida* aisladas encontrándose en ambos estudios que las especies aisladas con mayor porcentaje son la *C. albicans* y *C. glabrata*.

En un estudio realizado en España en la Universidad de Valencia, Departamento de Estomatología realizado por Ana María Martínez; en el cual participaron 150 pacientes diabéticos 94 resultaron positivos para presencia de *Cándida spp.* y 56 con cultivos negativos. En los cuales se obtuvieron los siguientes resultados: *C. albicans* con frecuencia de 43 (45,5%), *C. tropicalis* 7 (7,4%), *C. glabrata* 6 (6,4%) y *C. krusei* 2 (2,1%) (10).

Al comparar los datos de los dos estudios se encuentra que existe concordancia en cuanto a las especies identificadas en las muestras orofaríngeas siendo la especie predominante la *C. albicans*, con la diferencia que el estudio antes mencionado fue realizada en diabéticos de manera general y no se realizó al igual que la presente investigación en diabéticos controlados y no controlados; por lo cual no se puede hacer una comparación y análisis a profundidad.

Estos estudios concuerda con los resultados obtenidos en la actualidad en cuanto a las principales especies de *Cándida* identificadas y coinciden con la referencia bibliográfica de las principales y más comunes especies de *Cándida* a nivel oral y por ende orofaríngeo encontrándose con un mayor porcentaje *C. albicans*, seguida en menores porcentajes por *C. glabrata*, *C. krusei* y *C. tropicalis*; identificando a la especie *C. albicans* como la predominante en los distintos grupos de estudio. Además, cabe mencionar que los resultados obtenidos varían de acuerdo a la salud actual del paciente diabético, esto puede deberse al mal estado de salud del paciente los cuales por depresión de su sistema inmunológico son más propensos adquirir enfermedades por la propagación de microorganismos saprófitos como el caso de la Candidiasis; los que presentan mayor cultivos positivos para especies de *cándida* son los pacientes diabéticos no controlados, los cuales estuvieron ingresados en el Departamento de Medicina Interna del Hospital Isidro Ayora de Loja, son personas por lo general de

escasos recursos que no se pueden realizar un control periódico de su enfermedad, conjuntamente los medicamentos con los cuales son tratados son de difícil acceso por su costo como es el caso de pacientes diabéticos tratados con insulina; por ende llegan a esta Institución Hospitalaria con complicaciones propias de la diabetes como es el caso de daño renal, falla visual, pie diabético y por qué no decir también de enfermedades micóticas que muchas veces pasan por desapercibidos tanto para el médico como para el propio paciente.

8. CONCLUSIONES

- Luego del análisis de las muestras orofaríngeas procedentes de pacientes diabéticos controlados como pacientes diabéticos no controlados se logró identificar las principales especies de *Cándida*, las cuales se presentaron con los siguientes porcentajes: en el grupo de diabéticos no controlados *C. albicans* (47%), *C. glabrata* (25%), *C. krusei* (15%) y *C. tropicalis* (13%); en el grupo de diabéticos controlados se presentaron: *C. albicans* (80%), *C. krusei* (13%) y *C. glabrata* (7%), en este grupo no existió crecimiento de la especie *C. tropicalis* la que seguida de *C. albicans* es la que más daño causa y puede llevar a complicaciones severas en el hospedador.
- Se identificó al hongo *C. albicans* como la especie predominante tanto en muestras orofaríngeas de pacientes diabéticos controlados como en pacientes diabéticos no controlados; lo cual demuestra la patogenicidad y virulencia de la *C. albicans* debido a su capacidad de adherirse a las células epiteliales con mayor facilidad que otras especies de su género por la presencia de glicoproteínas que le confieren esta particularidad.
- En base a los resultados obtenidos podemos observar que los pacientes diabéticos no controlados a diferencia de los controlados son más propensos a adquirir candidiasis, debido a que está directamente relacionada con el estado metabólico del huésped es decir a mayor glucemia en la sangre mayor aporte de glucosa y otros azúcares que favorecen a la nutrición y desarrollo del hongo.
- Se pudo concientizar a los pacientes diabéticos que participaron en el estudio, mediante la entrega de tríptico informativo, acerca de la importancia de tener un adecuado cuidado de su cavidad bucal, a la vez tener un control más estricto sobre su enfermedad para así poder evitar el desarrollo y aparición de enfermedades entre ellas, las infecciones de origen micótico.

9. RECOMENDACIONES

- Se recomienda que se realicen estudios similares en los cuales se apliquen pruebas complementarias a más de utilizadas en la presente investigación como auxonograma en tubo, zimograma así como identificación de características fisiológicas ya que éstas permitirán la identificación de un número mayor de especies que pueden estar presentes en el paciente diabético.

- Detectar de manera temprana las complicaciones de la diabetes especialmente infecciones de origen micótico sobre todo a nivel bucal para evitar el desarrollo de patologías y manifestaciones graves.

- Que se organicen campañas informativas y de prevención acerca de las enfermedades micóticas oportunistas que se presentan en pacientes inmunodeprimidos, especialmente en pacientes diabéticos, al fin de prevenir la aparición y desarrollo de las mismas.

10. BIBLIOGRAFÍA

1. BURNETT, G., y otros., Manual de Microbiología y Enfermedades Infecciosas de la boca., Guatemala-México., 1998., 547 p.
2. MARCHENA MORERA Hussimi. Candidiasis y Diabetes Mellitus.(<http://www.portalesmedicos.com/publicaciones/articulos/513/1/Candidiasis-y-diabetes-mellitus.html>). 2014- 02-03
3. F.J. Tébar Massó, F. Escobar Jiménez. La Diabetes Mellitus en la Práctica Clínica. Editorial Médica Panamericana. Pág. 1- 4
4. MOREIRA Juan Pablo. Revista de Medicina Interna de Guatemala Vol.17, supl 1, 2013, pág.: s30-s34) Palabras Clave: Factores de Riesgo. Obesidad. Diabetes Mellitus.
5. Revista de Diagnóstico Biológico, Scielo. Candidiasis Orofaringea. J.L. Puerto, P. García-Martos, A. Márquez, L. García-Agudo, J. Mira. Servicio de Microbiología. Hospital Universitario Puerta del Mar. Cádiz. Madrid oct.-dic. 2001
6. AGUIRRE URIZAR J M; Candidiasis orales; Rev. IberoamMicol. 2002; 19: 17-21. Disponible en Link: <http://www.reviberoammicol.com/2002-19/017021.pdf>.
7. NEGRONI M; Microbiología Estomatológica, Fundamentos y Guía práctica; 1999; Editorial Panamericana; Cap 8:57-69., 399.
8. Rodríguez Ortega Judy. Candidiasis de la Mucosa Bucal. Revisión bibliográfica. Revista Cubana de Estomatología. Ciudad de la Habana-Cuba. Mayo-Agosto. 2002.
9. DUQUE, Clara M. Frecuencia de Portadores de *Cándida* spp en cavidad oral de pacientes diabéticos de Medellín. 2012. (en línea). Disponible en: http://www.imbiomed.com.mx/1/1/articulos.php?method=showDetail&id_articulo=99141&id_seccion=3074&id_ejemplar=9681&id_revista=187
10. MARTÍNEZ T ANA MARÍA. Valoración del estado Bucodental de Pacientes con Diabetes Mellitus. Valencia.2007. Disponible en: Buscador google: Link <http://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/9741/martinez.pdf?sequence=1>
11. PRATS Guillem. Microbiología Clínica. Editorial Médica Panamericana. 2007. Pág 4, 83

12. ARENAS, Roberto. *Micología Médica Ilustrada*. Tercera Edición. Año 2008. Pág. 17-37
13. ZINSSER. *Microbiología*. Editorial Médica Panamericana. 20va Edición. Págs. 1427-1440.
14. BAILEY Y SCOTT. *Diagnóstico Microbiológico*. Editorial Médica Panamericana. 11ava Edición. Madrid-España. Capítulo 6. Pág. 78-79, 634
15. OLIVAS Evangelina. *Manual de Prácticas de Microbiología I, II y Parasitología*. Universidad Autónoma de la Ciudad de Juárez. Pág. 77
16. HAY, R.J. Candidiasis Sistémica en Adictos a Heroína. *Rev. Med.* 292: 1096.
17. SAMSON, J. Candidosis Bucales, Epidemiología, Diagnóstico y Tratamiento. *Rev. Méd. Suiza.* 100: 548- 559.
18. WEBB, B.C. THOMAS, C.J. *Cándida Asociada a estomatitis dental. Etiología y Tratamiento. Parte 1. Factores influyentes en la distribución de especies de Cándida en la cavidad oral.* 43: 45-50
19. VELEZ, A. Hernán. *Fundamentos de la Medicina, Dermatología*. 6ta Edición. 2002. Página 67
20. ODDO, Alejandra. *Cándida albicans*. (en línea). 2007. Disponible en: Link: <http://candidalbicans.blogspot.com/2007/11/anatomia-patologica-y-patogenia.html>
21. CARDOZO Elba. Algunas consideraciones sobre *Cándida albicans* como Agente etiológico de Candidiasis bucal. VOLUMEN 40 N° 1 / 2002. Disponible en: http://www.actaodontologica.com/ediciones/2002/1/algunas_consideraciones_candida_albicans.asp
22. CÁRDENES PERERA. Levaduras del género *Cándida* de procedencia Clínica, Evaluación de métodos de identificación. Universidad de Laguna. Link: <ftp://tesis.bbt.k.ull.es/ccppytec/cp121.pdf>
23. TAPIA P. Cecilia. *Cándida glabrata*. Programa de Microbiología y Micología. Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. *Rev. Infect. Chil.* 2008
24. PEREIRA, T., El desarrollo de *Cándida* asociadas estomatitis protésica nuevos conocimientos., 5a ed., Panamá-Panamá., 2008., Vol.1 6 No. 15., 1590p

25. JABRA, R., Hidrofobicidad de la superficie celular asociado adherente de *Cándida dubliniensis* a las células epiteliales bucales humanos., Washington-Estados Unidos de America., 2005., Vol.11 No.2., Pp.77-22.
26. YIGIT, N., y otros., La actividad antifúngica de las cremas dentales contra cepas de *Cándida* orales., Madrid-España., 2008., Vol. 18 No.1., Pp.141-146
27. VALLINA ÁLVAREZ Emilio. Endocrinología Médica y Metabolismo. Temas de Patología Médica. Ediciones de la Universidad de Oviedo. 2007. Tema 23. Página 234.237-241
28. M. Pombo Arias. Tratado de Endocrinología Pediátrica. 2da Edición. Ediciones Díaz de Santos. S.A. Madrid- España. 2000. Capítulo 67. Página 1043.
29. PALLARDO SÁNCHEZ, Luis Felipe. Endocrinología Clínica. 2da Edición. Editorial Díaz de Santos. 2010. Capítulo 35. Pág. 319.
30. REECE Hobbins, Obstetricia Clínica. 3era Edición- Editorial Medica Panamericana.2007. Pág 744.
31. CECCOTTI. SFORZA. El Diagnóstico en Clínica Estomatológica. Editorial Médica Panamericana S.A. Buenos Aires- Argentina. 2007. Págs. 582-583.
32. R. BEIRO FUENTES. Factores predisponentes sistémicos de la Candidiasis Oral. Disponible en: Link: <http://www.mgyf.org/medicinageneral/febrero2002/121-125.pdf>
33. MAYORAL, Juan. La Candidiasis Oral. Revisión de la Literatura. 2009.: disponible en:
http://www.infomed.es/rode/index.php?option=com_content&task=view&id=212&Itemid=32
34. PARDI. Germán DETERMINANTES DE PATOGENICIDAD DE *CÁNDIDA ALBICANS*. Profesor Asociado. Jefe del Departamento de Ciencias Básicas II. Facultad de Odontología, U.C.V. Acta odontol. venez v.40 n.2 Caracas jun. 2002
Disponible en: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0001-63652002000200016&script=sci_arttext
35. CARLOS MANUEL UGALDE IGLESIAS. Tesis doctoral. Prevalencia de especies de *Cándida* en la cavidad oral de pacientes diabéticos Tipo 2. Disponible en: Link <http://digibug.ugr.es/bitstream/10481/2065/1/17677968.pdf> o en

http://www.researchgate.net/researcher/43311206_Carlos_Manuel_Ugalde_Iglesias.

11. ANEXOS

ÍNDICE DE ANEXOS

N°	DESCRIPCIÓN	Pág
Anexo 1	Permiso concedido por parte de las autoridades del Hospital.	50
Anexo 2	Oficio emitido por el Dr. Daniel Pacheco, al responsable del Laboratorio Clínico del Hospital, Lic. Ángel Luzón	51
Anexo 3	Certificaciones de elaboración de tesis fase analítica y difusión de resultados.	52
Anexo 4	Obtención del Consentimiento informado	55
Anexo 5	Guía para preparación del paciente previo a la obtención de muestra	56
Anexo 6	Obtención de muestras mediante hisopado orofaríngeo, Transporte y Conservación de Muestras, mediante empleo de suero fisiológico y gradilla para evitar pérdida de muestra	56
Anexo 7	Examen Directo, aplicando KOH al 20%.	58
Anexo 8	Preparación y siembra de la muestra en los medios de cultivo Agar Sabouraud y agar específico (CHROM-agar Cándida).	59
Anexo 9	Registro interno de resultados de la investigación	64
Anexo 10	Validación de resultados mediante realización de control externo	65
Anexo 11	Formato de resultados	68
Anexo 12	Tríptico informativo	69
Anexo 13	Fotos del proceso investigativo	71

ANEXO 1

PERMISO CORRESPONDIENTE CONCEDIDO POR PARTE DE LAS AUTORIDADES DEL HOSPITAL



HOSPITAL GENERAL "ISIDRO AYORA"

LOJA - ECUADOR



Of. N° 417-03-2014-SDG-HIAL
Loja, 19 de Marzo de 2014

Srta.
Tatiana Gabriela Astudillo Y.
Ciudad.-

De mi consideración:

En atención a su solicitud de fecha 18 de marzo de 2014, referente al desarrollo de su trabajo de campo en el hospital, me permito comunicarle que para la obtención de las muestras orofaríngeas de pacientes diabéticos debe tener por escrito el consentimiento informado de cada uno de ellos.

Con esta aclaración se puede autorizar su solicitud de realizar la tesis en esta Casa de Salud, favor inscribir la tesis con el Dr. Daniel Pacheco en el horario de martes o jueves de 14 a 18 horas

Con sentimientos de distinguida consideración.

Atentamente,

Dra. Ypdira Gavilanes C.
GERENTE DEL HOSPITAL ISIDRO AYORA
YGC/AC



ACCIÓN	APELLIDOS Y NOMBRES	CÉDULA DE CIUDADANÍA	FECHA	HORA	FIRMA
RECIBIDO POR:					



ANEXO 2

OFICIO EMITIDO POR EL DR. DANIEL PACHECO, DIRIGIDA AL RESPONSABLE DEL LABORATORIO CLÍNICO DEL HOSPITAL.



Ministerio
de Salud Pública

HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA
Departamento de Docencia Hospitalaria



Memorándun Nro. 0028-S-DA-HIAL
Loja 25 de marzo de 2014

Licenciado
ANGEL LUZÓN
Responsable de Laboratorio Clínico - HIAL

De mi consideración:

Me permito comunicar a usted que se autoriza a la Sra. TATIANA GABRIELA ASTUDILLO YEPEZ, egresado de la Carrera de Laboratorio Clínico de la Universidad Nacional de Loja, para que realice el procesamiento y análisis de las muestras que le permitan cumplir con el ESTUDIO DE IDENTIFICACION DE ESPECIES DE CÁNDIDA EN MUESTRAS OROFARINGEAS DE PACIENTES DIABETICOS CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA LOJA. Todos los gastos de reactivos correrán a cuenta del investigador.

Por la atención que se sirva dar a la presente me anticipo en agradecerle.

Atentamente,

Dr. DANIEL PACHECO M.
Coordinador de Docencia Hospitalaria HIAL.
Dr. DPM/btc.

c.c. Sra. TATIANA GABRIELA ASTUDILLO YEPEZ
Archivo

ANEXO 3

CERTIFICACIÓN DE ELABORACIÓN DE INVESTIGACIÓN FASE ANALÍTICA Y DIFUSIÓN DE RESULTADOS



HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA
Docencia e Investigación

Loja, 21 de julio de 2015

Dra. Dora Ruilova Dávila
Analista de Docencia e Investigación del HIAL

CERTIFICA:

Que el Srta. Tatiana Gabriela Astudillo Yépez ; realizó la entrega de un CD, con el contenido de su Tesis sobre “ IDENTIFICACION DE ESPECIES DE CANDIDA EN MUESTRAS OROFARINGEAS DE PACIENTES DIABÉTICOS CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA” y que desarrolló su investigación.

Atentamente.

Dra. Dora Ruilova Dávila
Analista de Docencia e Investigación del HIAL

HOSPITAL GENERAL
“ISIDRO AYORA”

COORDINACIÓN DE DOCENCIA
E INVESTIGACIÓN



HOSPITAL GENERAL PROVINCIAL ISIDRO AYORA

Laboratorio Clínico

Loja, 21 de julio de 2015

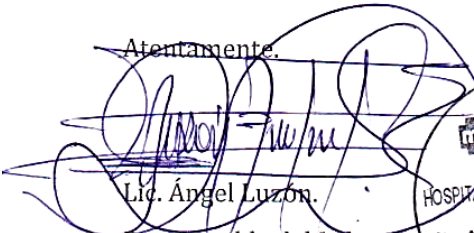
Lic. Ángel Luzón.


Responsable del Laboratorio Clínico

CERTIFICA:

Que la Sra. Tatiana Gabriela Astudillo Yépez; realizó el procesamiento y análisis de muestras en el periodo Abril – Mayo del 2014, para el llevar a cabo su tesis sobre “IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CÁNDIDA EN MUESTRAS OROFARÍNGEAS DE PACIENTES DIABÉTICOS CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA”.

Es lo que puedo decir en honor a la verdad.

Atentamente,

Lic. Ángel Luzón.
Responsable del Laboratorio Clínico del Hospital





HOSPITAL GENERAL ISIDRO AYORA
MEDICINA INTERNA

Loja, 21 de julio de 2015

Licenciada

Janina Abad

RESPONSABLE DEL SERVICIO DE MEDICINA INTERNA (E)

CERTIFICA:

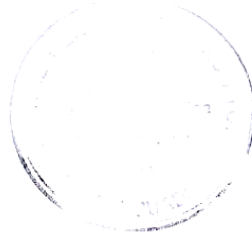
Que la señora Tatiana Gabriela Astudillo Yépez, realizó la toma de muestras y difusión de resultados en el periodo de Abril-Mayo de 2014, para llevar a cabo su tesis titulada "IDENTIFICACIÓN DE ESPECIES DE CÁNDIDA EN MUESTRAS OROFARÍNGEAS DE PACIENTES DIABÉTICOS CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL ISIDRO AYORA DE LOJA"

Es cuanto certifico para los fines pertinentes.

Atentamente,

HOSPITAL PROVINCIAL GENERAL
ISIDRO AYORA
Lic. Janina A. Abad
ENFERMERA
14-E-32

Lic. Janina Abad



ANEXO 4
CONSENTIMIENTO INFORMADO

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA LABORATORIO CLÍNICO

Yoportador de la cédula N°
autorizo a la Sra. Tatiana Astudillo para que obtenga mi muestra orofaríngea y a través
de la misma pueda llevar a cabo la presente investigación con tema: **IDENTIFICACIÓN
DE ESPECIES DE CÁNDIDA EN MUESTRAS OROFARÍNGEAS DE PACIENTES
DIABÉTICOS CONTROLADOS Y NO CONTROLADOS QUE ACUDEN AL HOSPITAL
ISIDRO AYORA DE LOJA**, y que los resultados obtenidos a través del mismo no
servirán para otros fines de los que fueron expuestos.

.....

Firma

ANEXO 5

PREPARACIÓN AL PACIENTE

Suspender cualquier tratamiento por lo menos tres días antes.

Evitar el aseo bucal y uso de enjuagues bucales el día de la toma de la muestra.

No consumir alimentos o bebidas.

Si está empleando algún medicamento para lesiones bucales suspenderlas por lo menos un día antes de la toma de muestra.

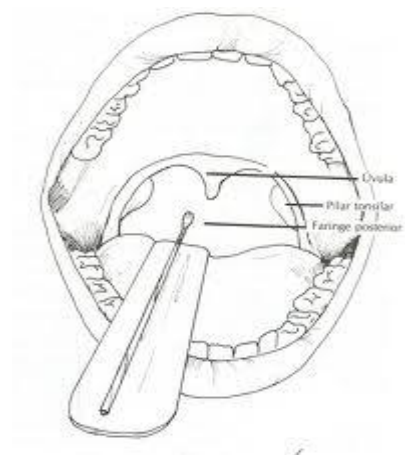
ANEXO 6

OBTENCIÓN, TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

OBTENCIÓN

Se utilizan asas de alambre de platino rectas o de preferencia hisopos. En general las muestras de estas lesiones deben ser obtenidas por raspado de las superficies epiteliales afectadas. En los casos de candidiasis oral donde se observan placas blanquecinas, las muestras pueden tomarse con escobillón.

Para la toma de la muestra la lengua debe ser empujada hacia abajo con un baja lenguas para evitar la contaminación del hisopo con saliva, que disminuiría la calidad de la muestra.



TRANSPORTE Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

Si el análisis no es inmediato, los hisopos con la muestra obtenida se colocan en un tubo con tapa rosca que contenga suero fisiológico. Idealmente la muestra debe ser procesada en la hora siguiente a su recolección si no es factible el análisis en el transcurso de ese tiempo se recomienda refrigerar hasta procesar, de preferencia con un antibiótico para evitar la reproducción bacteriana.

ANEXO 7

EXAMEN DIRECTO

Examen microscópico en fresco: Si se trata de material obtenido de mucosas, heces, etc, el material se examina directamente entre porta y cubreobjetos, se puede añadir sobre las muestras unas gotas de Hidróxido de Potasio KOH al 20%, solución de yodo También se puede emplear.

Análisis de las características microscópicas

Microorganismo unicelulares esféricos u ovoides, de paredes delgadas de 4 a 10 micras de diámetro, gemantes, con seudomicelio o micelio escaso o ausente: la presencia de filamentos es característica del género *Cándida*.



ANEXO 8

PREPARACIÓN Y CONSERVACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO AGAR

SABOURAUD Y CHROMagar



INSTRUCCIONES DE USO –
MEDIOS EN PLACA LISTOS
PARA USAR



PA-254515.03

Rev.: Junio de 2003

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

USO PREVISTO

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate) (agar GC Sabouraud BD / medio CHROMagar para Candida [biplaca]) se utiliza para el aislamiento selectivo de hongos y para el aislamiento e identificación de *Candida albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* a partir de muestras clínicas.

PRINCIPIOS Y EXPLICACION DEL PROCEDIMIENTO

Método microbiológico.

El agar Sabouraud con glucosa es un medio de amplia utilización y parcialmente selectivo para hongos debido a su bajo pH y alta concentración de glucosa. Dado que muchas bacterias toleran el bajo pH y la alta concentración de glucosa y crecen en agar Sabouraud, en especial durante incubación prolongada, a menudo necesaria para el aislamiento de hongos, se han desarrollado numerosas fórmulas con inhibidores antibacterianos. Se ha demostrado que los antimicrobianos tales como penicilina, cloranfenicol, aminoglucósidos o combinaciones de los mismos son efectivos para inhibir bacterias sin afectar el crecimiento de los hongos¹⁻⁶. En Sabouraud GC Agar las peptonas son fuente de nitrógeno. La glucosa (=dextrosa) es una fuente de energía para el crecimiento de los hongos. El cloranfenicol y la gentamicina son antibióticos de amplio espectro que inhiben una amplia variedad de bacterias gram negativas y gram positivas.

CHROMagar Candida Medium es un medio selectivo y de diferenciación para el aislamiento de hongos. Al añadir sustratos cromógenos en el medio, las colonias de *C. albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* producen colores diferentes, lo que hace posible la detección directa de estas especies de levaduras en la placa de aislamiento⁷⁻¹². Las colonias de *C. albicans* presentan un color verde de claro a mediano, las colonias de *C. tropicalis* presentan un color azul verdoso a azul metálico y las colonias de *C. krusei* presentan un color rosa claro con un borde blanquecino. Es posible que otras especies de levaduras produzcan su color natural (crema) o presenten un color rosa o malva de claro a oscuro (por ejemplo, *Candida [Torulopsis] glabrata* y otras especies). Una ventaja adicional del medio es la fácil detección de cultivos mixtos de levaduras, debido a los diferentes colores que presentan sus colonias^{7,9-12}. Las peptonas especialmente seleccionadas suministran los nutrientes en CHROMagar Candida Medium. La mezcla cromógena patentada está formada por sustratos artificiales (cromógenos), que liberan compuestos de colores diferentes al ser degradados por enzimas específicas. De esta manera es posible diferenciar determinadas especies o detectar ciertos grupos de organismos con sólo un mínimo de pruebas de confirmación. El cloranfenicol inhibe la mayoría de los contaminantes bacterianos. CHROMagar Candida Medium fue desarrollado por A. Rambach y lo vende BD Diagnostic Systems mediante un acuerdo de licencia con CHROMagar, París, Francia.

REACTIVOS

Fórmulas* por litro de agua purificada

Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol		CHROMagar Candida Medium	
Digerido pancreático de caseína	5,0 g	Cromopectona	10,0 g
Digerido péptico de tejido animal	5,0	Glucosa	20,0
Glucosa	40,0	Mezcla cromógena	2,0
Agar	15,0	Cloranfenicol	0,5
Gentamicina	0,04	Agar	15,0
Cloranfenicol	0,4	pH 6,0 ± 0,3	
pH 5,6 ± 0,2			

*Ajustada y/o suplementada para satisfacer los criterios de rendimiento.

PRECAUCIONES

IVD . Solamente para uso profesional.

No utilizar las placas si muestran evidencia de contaminación microbiana, decoloración, deshidratación, grietas o cualquier otro signo de deterioro.

Consultar los procedimientos de manipulación aséptica, riesgos biológicos y desecho del producto usado en el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**.

ALMACENAMIENTO Y VIDA UTIL

Al recibir las placas, almacenarlas en un lugar oscuro a una temperatura de 2 a 8 °C, en su envase original hasta justo antes de su uso. Evitar la congelación y el sobrecalentamiento. Las placas pueden inocularse hasta la fecha de caducidad (véase la etiqueta del paquete) e incubarse durante los períodos de incubación recomendados.

Las placas de pilas abiertas de 10 unidades pueden utilizarse durante una semana cuando se almacenan en un área limpia a una temperatura de 2 – 8 °C.

Reducir al mínimo la exposición a la luz antes y durante la incubación, dado que la luz puede destruir los cromógenos.

CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO

Inocular muestras representativas con las cepas siguientes (para obtener los detalles, véase el documento **INSTRUCCIONES GENERALES DE USO**). Incubar las placas en atmósfera aerobia durante 20 – 48 h a 35 ± 2 °C.

Cepas	Sabouraud GC Agar	CHROMagar Candida Medium
<i>Candida albicans</i> ATCC 60193	Crecimiento de bueno a excelente, colonias blancas	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de color verde claro a mediano
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	Crecimiento de bueno a excelente; colonias planas, de color blanco a crema	Crecimiento de bueno a excelente; colonias planas, de color de rosa claro a rosa, con un borde blanquizco
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 1369	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de color blanco a crema	Crecimiento de bueno a excelente; colonias de azul grisáceo a azul verdoso o azul metálico, con o sin halos violetas en el medio circundante
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Inhibición de parcial a completa	Inhibición de parcial a completa
* <i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	Crecimiento de bueno a excelente	Crecimiento de bueno a excelente
Sin inocular	Ámbar claro, transparente	Ámbar claro, transparente

* puede incubarse durante un máximo de 4 días

PROCEDIMIENTO

Materiales suministrados

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (biplacas Stacker de 90 mm).

Controladas microbiológicamente.

Para la identificación de los medios en esta biplaca, Sabouraud GC Agar se rotula con un punto negro.

Materiales no suministrados

Medios de cultivo auxiliar, reactivos y el equipo de laboratorio que se requiera.

Tipos de muestras

Los medios en esta biplaca se utilizan para el aislamiento de hongos y para el aislamiento e identificación de *Candida albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* a partir de todo tipo de muestras clínicas (véase también **CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**).

Procedimiento de análisis

Extender la muestra o el cultivo para aislamiento en la superficie de cada medio. Si la muestra se cultiva de una torunda, hacer girar la misma sobre una superficie pequeña de cada superficie cercana al borde, para luego extenderse a partir de dichas zonas con un asa. Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C. Reducir al mínimo la exposición a la luz antes y durante la incubación. Efectuar la lectura de **CHROMagar Candida Medium** después de 42 – 48 h. Dado que algunos hongos filamentosos de crecimiento lento pueden requerir una incubación más prolongada, colocar la placa nuevamente en la incubadora hasta el día 4 o posterior. Después de este lapso, examinar si **Sabouraud GC Agar** presenta más aislados que no se han detectado todavía en **CHROMagar Candida Medium**, pero no volver a observar **CHROMagar Candida Medium** después de la incubación prolongada. Los aislados en **Sabouraud GC Agar** deben someterse a pruebas adicionales de diferenciación para lograr una identificación completa³⁻⁶. Ciertos aislados ocasionales, tales como *Cryptococcus neoformans* y los hongos filamentosos, requerirán una incubación más prolongada y, posiblemente, una temperatura de incubación más baja. Por tanto, se recomienda inocular una placa de **BD Sabouraud Agar with Gentamicin and Chloramphenicol** con la muestra e incubar esta placa a 25 – 30 °C, si se espera obtener hongos que requieren una temperatura de incubación más baja.

Resultados

Después de una incubación suficiente, examinar si **Sabouraud GC Agar** presenta colonias fúngicas con color y morfología característicos. Deben realizarse pruebas bioquímicas y procedimientos microscópicos y serológicos para lograr una identificación completa de los aislados³⁻⁶.

CHROMagar Candida Medium: Se recomienda efectuar la lectura de este medio en un fondo blanco. Si hay presentes especies de *Candida*, las colonias presentarán un color verde de claro a mediano (*C. albicans*), rosa claro a rosa con un borde blancuzco (*C. krusei*) o bien azul verdoso a azul metálico con o sin halos violetas (*C. tropicalis*). Otras especies de *Candida* y otras levaduras presentan un color malva de claro a oscuro (rosa a violeta) o, si no se utilizan sustratos cromógenos, presentarán su color natural de colonias (de crema a blanco). Los datos de estudios diversos indican que no es necesario realizar pruebas de identificación adicionales para *Candida albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei*^{7,9-11}. Las colonias que presentan un color de rosa claro a oscuro o de malva a violeta, o bien si muestran su color crema natural, deben identificarse mediante los métodos estándar⁷⁻¹¹.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO Y LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate) se utiliza para el aislamiento selectivo de hongos (**Sabouraud GC Agar**) y para el aislamiento e identificación de *C. albicans*, *C. krusei* y *C. tropicalis* (**CHROMagar Candida Medium**).

Sabouraud GC Agar es un medio convencional ampliamente utilizado para el aislamiento selectivo de hongos. Los aislados de este medio deben someterse a pruebas de diferenciación adicionales mediante los procedimientos clásicos de identificación de hongos¹⁻⁶. *Nocardia* y *Actinomyces* son bacterias filamentosas (¡no son hongos!) y, por lo tanto, no crecen en todos los medios Sabouraud con inhibidores bacterianos. Consultar en las referencias correspondientes la información detallada y los procedimientos recomendados para la identificación de aislados^{3-6,8}.

El uso de **CHROMagar Candida Medium** para la identificación directa de *C. albicans*, *C. krusei* y *C. tropicalis* ha sido documentado en numerosos estudios y manuales que también pueden consultarse para obtener información adicional acerca de los procedimientos recomendados^{7,9-12}. Los resultados de una evaluación de rendimiento reciente de **BD CHROMagar Candida Medium** fueron notificados por Jabra-Rizk y colegas¹¹.

Candida (Torulopsis) glabrata habitualmente produce colonias de color malva a malva oscuro en este medio⁹. No obstante, se recomienda que los organismos que aparecen con este color

se confirmen mediante pruebas bioquímicas adicionales, dado que este color de colonia puede ser producido por diversas especies de levaduras.

Las colonias que presentan un color de rosa o malva claro a oscuro, o bien muestran su color crema natural en este medio deben identificarse mediante los métodos estándar³⁻⁵.

Los hongos diferentes de las levaduras también pueden aislarse en este medio si se incuban a una temperatura y durante un período apropiados para estos organismos.

Dado que los hongos filamentosos pueden metabolizar los sustratos cromógenos, los colores presentados por estos organismos en **CHROMagar Candida Medium** pueden ser diferentes de los mostrados en otros medios fúngicos. No utilizar el aspecto del crecimiento de los hongos filamentosos en este medio para obtener una identificación morfológica tradicional.

Se ha informado que *C. dubliniensis* produce un color verde oscuro distintivo al realizar el aislamiento primario en **CHROMagar Candida Medium**¹³⁻¹⁵. Sin embargo, esta propiedad tal vez no se conserve en el subcultivo. Se requieren pruebas fenotípicas y genotípicas adicionales para confirmar la presencia de *C. dubliniensis*. Las pruebas fenotípicas sencillas, por ejemplo, crecimiento del aislado a 45 °C (*C. dubliniensis*: resultado negativo; *C. albicans*: resultado positivo) pueden utilizarse para la diferenciación de las dos especies¹².

Antes de utilizar **BD CHROMagar Candida Medium** por primera vez, se recomienda practicar con el aspecto de colonia característico de cepas definidas de *C. albicans*, *C. krusei* y *C. tropicalis*, por ejemplo, las cepas mencionadas en **CONTROL DE CALIDAD DEL USUARIO**.

Numerosos hongos filamentosos requieren temperaturas de incubación más bajas que las necesarias para **BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)**. Sin embargo, la incubación de esta biplaca a temperaturas inferiores a 35 °C puede demorar las reacciones cromógenas en **CHROMagar Candida Medium**.

REFERENCIAS

1. MacFaddin, J.F. 1985. Media for the isolation – cultivation – maintenance of medical bacteria. Volume 1. Williams and Wilkins, Baltimore, London.
2. Atlas, R.M. 1993: Handbook of Microbiological media; CRC Press, Boca Raton.
3. Ajello, L., L.K. Georg, W. Kaplan, and L. Kaufman. 1963. CDC laboratory manual for medical mycology. PHS Publication No. 994, U.S. Government Printing Office, Washington, D.C.
4. Larone, D.H. 1995: Medically important fungi - a guide to identification. Third edition. American Society for Microbiology Press, Washington.
5. Merz, W.G., Roberts, G.D. 1995: Detection and recovery of fungi from clinical specimens. In: Manual of Clinical Microbiology (eds. Murray, P.R. et al.) , p. 709-722. ASM Press, Washington D.C.
6. Weitzman, I., J. Kane, and R.C. Summerbell. 1995. Trichophyton, Microsporium, Epidermophyton and agents of superficial mycoses, p. 791-808. In P.R. Murray, E.J. Baron, M.A. Pfaller, F.C. Tenover, and R.H. Tenover (ed.), Manual of clinical microbiology, 6th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
7. Odds, F.C., and R. Bornaerts. 1994. CHROMagar Candida, a new differential isolation medium for presumptive identification of clinically important *Candida* species. J. Clin. Microbiol. 32: 1923-1929.
8. Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). 2003. Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
9. Pfaller, M.A., A. Huston, and S. Coffman. 1996. Application of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, and *Candida (Torulopsis) glabrata*. J. Clin. Microbiol. 34: 56-61.
10. Beighton, D., R. Ludford, D.T. Clark, S.R. Brailsford, C.L. Pankhurst, G.F. Tinsley, J. Fiske, D. Lewis, B. Daly, N. Khalifa, V. Marren, and E. Lynch. 1995. Use of CHROMagar Candida medium for isolation of yeasts from dental samples. J. Clin. Microbiol. 32: 3025-3027.
11. Jabra-Rizk, M.A. et al. 2001. Evaluation of a reformulated CHROMagar Candida Medium. J. Clin. Microbiol. 30: 2015-2016.
12. Hazen, K.H., and S.A. Howell. 2003. *Candida*, *Cryptococcus*, and other yeasts of medical importance. In: Murray, P. R., E. J. Baron, J.H. Jorgensen, M. A. Pfaller, and R. H. Tenover (ed.). Manual of clinical microbiology, 8th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
13. Schoofs, A., F.C. Odds, R. Coleblunders, M. Ieven, and H. Goosens. 1997. Use of specialised isolation media for recognition and identification of *Candida dubliniensis* isolates from HIV-infected patients. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 16:296-300.
14. Kirkpatrick, W.R., S.G. Revankar, R.K. McAtee, J.L. Lopez-Ribot, A.W. Fothergill, D.I. McCarthy, S.E. Sanche, R.A. Cantu, M.G. Rinaldi, and T.F. Patterson. 1998. Detection of *Candida dubliniensis* in

oropharyngeal samples from Human Immunodeficiency Virus-infected patients in North America by primary CHROMagar Candida screening and susceptibility testing of isolates. J. Clin. Microbiol. 36:3007-3012.

15. Odds, F.C., L. Van Nuffel, and G. Dams. 1998. Prevalence of *Candida dubliensis* isolates in a yeast stock collection. J. Clin. Microbiol. 36:2869-2873.

ENVASE Y DISPONIBILIDAD

BD Sabouraud GC Agar / CHROMagar Candida Medium (Biplate)

Nº de cat. 254515 Medios en placa listos para usar, 20 placas

INFORMACIÓN ADICIONAL

Para obtener más información, dirijase a su representante local de BD.



BD Diagnostic Systems

Tullastrasse 8 – 12

D-69126 Heidelberg/Germany

Phone: +49-62 21-30 50 Fax: +49-62 21-30 52 16

Reception_Germany@europe.bd.com

BD Diagnostic Systems Europe

Becton Dickinson France SA

11 rue Aristide Bergès

38800 Le Pont de Claix/France

Tel: +33-476 68 3636 Fax: +33-476 68 3292 <http://www.bd.com>

BD, BD logo and Stacker are trademarks of Becton, Dickinson and Company.

CHROMagar is a trademark of Dr. A. Rambach.

ATCC is a trademark of the American Type Culture Collection.

© 2003 Becton, Dickinson and Company

ANEXO 10
VALIDACIÓN DE RESULTADOS

LABORATORIO DE
MICROBIOLOGIA
Y CLÍNICO **SAN PABLO**

Dra. Mgs. María Elizabeth Betancourt P.
Microbióloga Clínica.

PACIENTE:
EDAD: NO DISPONIBLE
MEDICO: NO DISPONIBLE
FECHA DE RECEPCION: 27/05/2014
FECHA DE ENTREGA: 30/05/2014

REPORTE DE MICROBIOLOGIA

MUESTRA: SECRECIÓN FARÍNGEA

RESULTADO NO HAY DESARROLLO MICÓTICO EN 72 HORAS DE INVESTIGACIÓN

LABORATORIO DE
MICROBIOLOGIA
Y CLÍNICO **SAN PABLO**
Dra. Mgs. Elizabeth Betancourt P.
MICROBIOLOGA CLINICA

DIRECCIÓN: ROCAFUERTE 15 - 59 Y 18 DE NOVIEMBRE

TELÉFONO: 2576-735 / 0984977134

LABORATORIO DE
MICROBIOLOGIA
Y CLINICO **SAN PABLO**

PACIENTE:

EDAD: 56 AÑOS

MEDICO: DR. NO DISPONIBLE

FECHA: 10/07/2014

FECHA DE ENTREGA: 13/07/2014

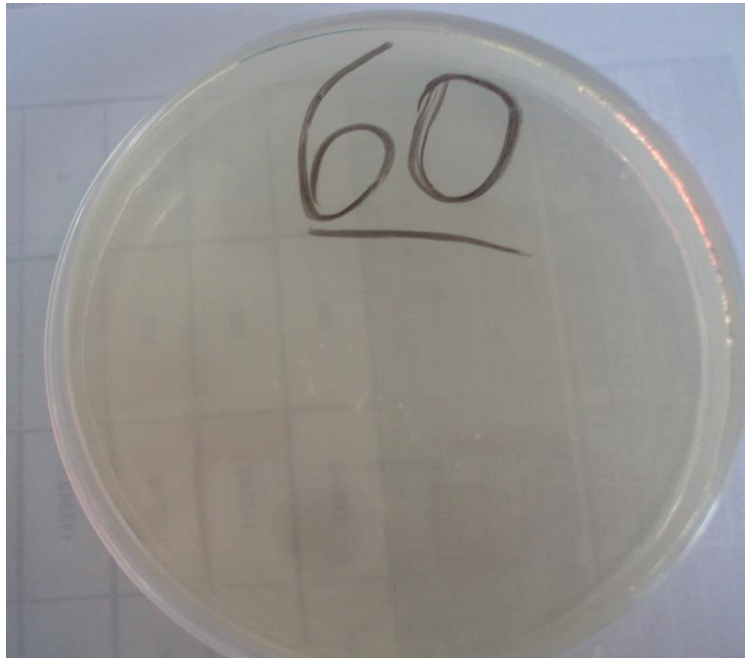
REPORTE DE MICROBIOLOGIA

MUESTRA: SECRECION OROFARINGEA

GERMEN IDENTIFICADO: CANDIDA ALBICANS
TRATAMIENTO ESPECIFICO

IMÁGENES DE RESULTADOS DE MUESTRAS ENVIADAS PARA LA VALIDACIÓN

CONTROL NEGATIVO



CONTROL POSITIVO





ANEXO 11
REPORTE DE RESULTADOS

HOSPITAL GENERAL PROVINCIAL ISIDRO AYORA
RESULTADOS DE ANÁLISIS DE LABORATORIO

Paciente:

Cédula:

Fecha de impresión:

Origen:

Médico: Dr. /Dra.

MICROBIOLOGÍA

PARAMETROS

RESULTADOS

KOH

CULTIVO

FIRMA DEL RESPONSABLE

Tatiana Astudillo

ANEXO 12

TRÍPTICO INFORMATIVO

- ◆ Tener una buena higiene bucal.
- ◆ Evitar consumo de alcohol y tabaco
- ◆ No consumir alimentos con mucha azúcar o carbohidratos .
- ◆ Consumir agua potabilizada o bien hervida.
- ◆ Consultas periódicas al médico
- ◆ Seguir adecuadamente los tratamientos



RESULTADOS OBTENIDOS EN LA INVESTIGACIÓN

De un total de 61 muestras analizadas 45 resultaron positivas para el crecimiento de especies del género *Cándida*.

Las principales especies de *cándida* encontradas en muestras positivas de Pacientes diabéticos no controlados son:

Cándida albicans (47%), *Cándida glabrata* (25%) , *Cándida krusei* (15%), y *C. tropicalis* (13%) .

Pacientes diabéticos controlados:

Cándida albicans (80%), *Cándida krusei* (13%) y *Cándida glabrata* (7%)



UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
ÁREA DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO

ESPECIES DE CÁNDIDA EN PACIENTES DIABÉTICOS

CANDIDIASIS ORAL



LOJA ECUADOR

¿Que son los hongos?

Son microorganismos que pueden ser unicelulares (una célula) o pluricelulares (muchas células), están constituyendo parte de organismos vivos como el ser humano o parte de seres inertes como el suelo.



¿Que son los hongos del género Cándida?

Son microorganismos oportunistas es decir que son hongos que habitan de manera natural en el cuerpo y que por disminución de las defensas del organismo pueden convertirse en patógenos causando enfermedades y malestar en la persona.

Los principales hongos que forman parte del género Cándida son: Cándida albicans, C. tropicalis, C. krusei, y C. glabrata.

¿Qué es la Candidiasis oral ?

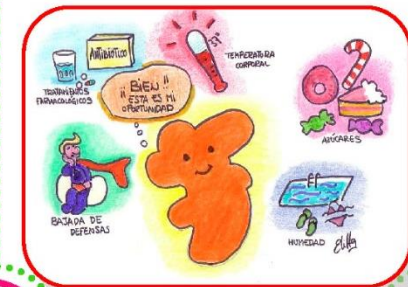
Es una enfermedad que se da a nivel bucal ocasionada por hongos del género Cándida principalmente por C. albicans.

La candidiasis oral se contrae cuando Cándida, normalmente presente en el cuerpo, crece en forma descontrolada debido a que el sistema inmunitario no es lo suficientemente fuerte como para controlar el crecimiento del hongo. Las personas mayores tienen candidiasis oral debido a que su sistema inmunitario puede debilitarse con la edad. También se puede presentar en caso de personas con enfermedades como Diabetes (por aumento de niveles de azúcar en el organismo que favorece a la nutrición de los hongos y por



Factores que favorecen la aparición de Candidiasis oral

- * No mantener un adecuado aseo y limpieza de la cavidad oral.
- * Consumir agua que no sea potable o sin hervir
- * Consumir alcohol y tabaco disminuye defensas del hospedador ya que los hongos son oportunistas
- * Ingerir gran cantidad de alimentos ricos en azúcar o carbohidratos (dulces, pan, yuca, arroz, etc).
- * No tomar adecuadamente los medicamentos prescritos por el médico para control de diabetes.



ANEXO 13
FOTOS DEL PROCESO DE INVESTIGACIÓN

FASE PREANALÍTICA



Fig.1.- Preparación de medios



Fig.2.- Vertido de medios en cajas Petri



Fig.3 y 4.- Toma de muestra

FASE ANALÍTICA



Fig. 5.- Examen directo



Fig.6.- Siembra en medios de cultivos

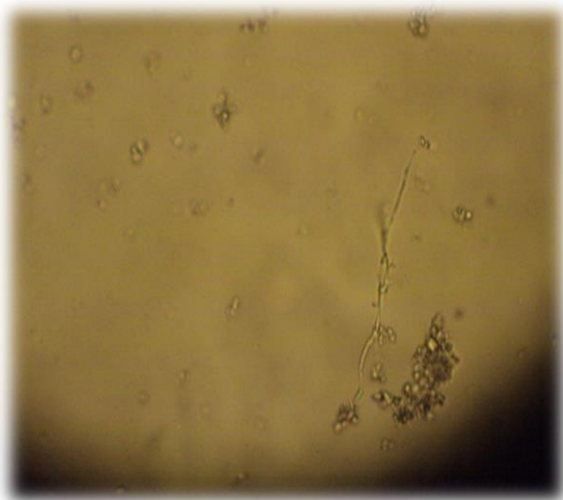


Fig. 7 y 8 estructuras micóticas características de Cándida observadas al microscopio



Fig.8 y 9.- Crecimiento de colonias características de Cándida en medio Agar Sabouraud

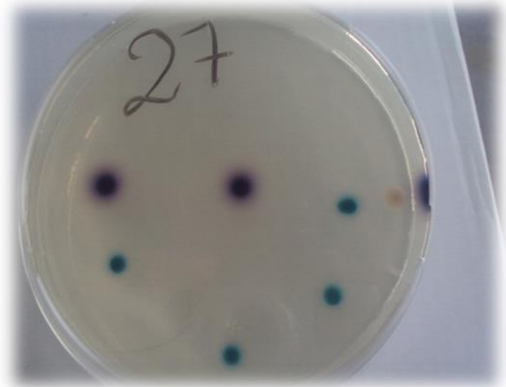


Fig.10 y 11.- Crecimiento diferencial de colonias de Cándida en medio CHROMagar.

FASE POSANALÍTICA



Fig.12 y 13.- entrega de tríptico a pacientes del Club de diabéticos del HIA



Fig. 14.- Entrega de Tríptico a pacientes del Departamento de Medicina Interna del HIA

ÍNDICE DE CONTENIDOS

Caratula	i
Certificación	ii
Autoría	iii
Carta de autorización de tesis	iv
Dedicatoria	v
Agradecimientos	vi
1. Título	1
2. Resumen	2
Summary	3
3. Introducción	4
4. Revisión Literaria	7
CAPÍTULO 1. HONGOS	7-12
1.1 Definición.....	7
1.2 Características fundamentales.....	7
1.3 Necesidades fisiológicas.....	8
1.4 Reproducción.....	8
1.4.1. Reproducción asexual.....	9
1.4.2. Reproduccion sexual.....	10
1.5. Clasificación de los hongos.....	10
1.5.1. Zygomycota.....	10
1.5.2. Basidiomycota.....	11
1.5.3. Deuteromycota.....	11
1.5.4. Ascomycota.....	11
1.6 Clasificación Práctica de los Hongos.....	11
CAPÍTULO 2 HONGOS OPORTUNISTAS	13-18
2.1 Hongos Oportunistas del Género <i>Cándida</i>	13
2.2 Clasificación Taxonómica.....	14
2.2.1. <i>Cándida albicans</i>	15
2.2.2. <i>Cándida glabrata</i>	16
2.2.3. <i>Cándida krusei</i>	17

2.2.4. <i>Cándida tropicalis</i>	18
CAPÍTULO 3. PATOLOGÍA.....	19-26
3.1 Candidiasis.....	19
3.1.1. Infecciones por <i>Cándida</i> spp.....	19
3.1.2. <i>Cándida</i> spp. Como Agente de Infecciones Orales.....	20
3.1.3. Candidiasis Oral.....	21
3.2 Diabetes mellitus.....	21
3.2.1 Definición.....	21
3.2.2 Clasificación de Diabetes Mellitus.....	22
3.2.1.1 Diabetes Tipo I.....	23
3.2.1.2 Diabetes Tipo II.....	24
3.2.1.3 Diabetes Gestacional.....	25
3.3. Manifestaciones Clínicas de la Diabetes a nivel bucal.....	25
3.3.1. Lesiones gingivales.....	25
3.3.2. Lesiones Periodontales.....	25
3.4.3. Infecciones micóticas.....	25
CAPÍTULO 4. DIAGNOSTICO DE LABORATORIO PARA IDENTIFICACIÓN DE HONGOS.....	27-29
4.1 Exámen directo.....	27
4.2 Cultivo.....	27
4.2.1 Medio de Cultivo Agar Sabouraud.....	27
4.2.2 Medio CHROMagar.....	28
4.3. Esquema para identificación de <i>Cándida</i>	29
5. Materiales y Métodos.....	30
6. Resultados.....	33
7. Discusión.....	39
8. Conclusiones.....	43
9. Recomendaciones.....	44
10. Bibliografía.....	45
11. Anexos.....	49