



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO**

Título

“Tipificación de *Candida* en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil que acuden al Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja”

Tesis previa a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico

AUTORA:

Diana Maritza Cotacachi Tuquerres

DIRECTORA:

Lic. Tiana Alicia Delgado, Mg. Sc.



**LOJA – ECUADOR
2018**

Certificación

Lic. Iliana Alicia Delgado, Mg. Sc.

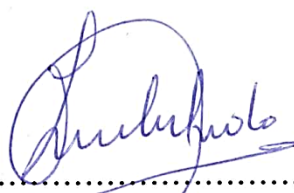
DIRECTORA DE TESIS

Certifica:

Que la presente tesis titulada: **Tipificación de *Candida* en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil que acuden al Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja**, de autoría de la Srta. Diana Maritza Cotacachi Tuquerres previo a la obtención del título de Licenciada en Laboratorio Clínico, ha sido supervisada y elaborada bajo mi dirección, por lo que certifico que cumple con los requisitos establecidos por el Reglamento de Régimen Académico de la Universidad Nacional de Loja y una vez revisada autorizo su presentación ante el tribunal correspondiente.

Loja, 12 de Diciembre de 2018

Atentamente,



.....
Lic. Iliana Alicia Delgado, Mg. Sc.

DIRECTORA DE TESIS

Autoría

Yo, Diana Maritza Cotacachi Tuquerres con número de cedula 1003949169, declaro ser la autora del presente trabajo investigativo titulada “Tipificación de *Candida* en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil que acuden al Centro de Salud N° 1 de la ciudad 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 del presente trabajo en el Repositorio Institucional - Biblioteca Virtual.

Autora: Diana Maritza Cotacachi Tuquerres

Firma:

Cédula: 1003949169

Fecha: 12 de Diciembre de 2018

Carta de autorización

Yo, Diana Maritza Cotacachi Tuquerres, declaro ser la autora de la tesis titulada **“Tipificación de *Candida* en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil que acuden al Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja”** 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 al mundo la producción intelectual de la Universidad, a través de la visibilidad en su contenido de la siguiente manera en el Repositorio Digital Institucional:

Los usuarios pueden consultar el contenido de este trabajo en el RDI, en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tengan convenio la Universidad.

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, en la ciudad de Loja, en el mes de diciembre del dos mil dieciocho, firma la autora.

Firma:



Autora: Diana Maritza Cotacachi Tuquerres

Cédula: 1003949169

Dirección: Guaranda y Gran Colombia

Correo electrónico: dianys_mct@hotmail.com

Teléfono: 0959400404

DATOS COMPLEMENTARIOS:

Directora de Tesis: Lic. Iliana Alicia Delgado, Mg. Sc.

Tribunal de grado:

Presidente: Lic. Gladys Margoth Jumbo Chuquimarca, Mg. Sc.

Vocal: Lic. Marlon Bravo Bonilla, Mg. Sc.

Vocal: Lic. Alicia Silvana Villavicencio Obando, Mg. Sc.

Dedicatoria

El presente trabajo lo dedico en primer lugar a Dios, quien me dio la fuerza necesaria para poder culminar con una de mis mayores metas, el cual a pesar de todos los problemas que se me atravesaban en el transcurso de mi vida estudiantil y personal, siempre me sostuvo firmemente para no desfallecer en el intento.

A mi mami, por darme la vida, por siempre saber guiarme en el camino haciendo de mi la persona que soy, por inculcarme valores, principios y sobre todo por brindarme todo el amor que pudo haberme brindado, además por ser la persona que siempre me da palabras de aliento cuando veo toda mi vida derrumbada, por creer en mi cuando nadie más lo hacía; a mi papi quien junto a mi mami siempre me brindó su apoyo y su cariño incondicional, demostrándome a su manera que debo ser una persona de bien y nunca derrumbarme por cosas pequeñas.

A mi hermana consentida Silvy, quien ha sido una excelente hermana, la mejor amiga, mi eterna confidente, la que llena de luz mi vida, en otras palabras, Mi Personita Favorita; y a mi hermano al cual quiero como a un hijo, quien con sus bromas y su sentido de humor siempre llena de felicidad mi vida y por el cual daría mi vida.

Agradecimiento

En primer lugar me gustaría agradecer a Dios por tantas bendiciones derramadas en mi vida, por hacer posible que uno de mis sueños tan anhelados se pueda cumplir; y sobre todo por siempre darme una luz de sabiduría cuando todo se pone oscuro.

A la Universidad Nacional De Loja, por abrirme las puertas de su institución y hacerme sentir de él como mi segundo hogar, en donde los maestros se convierten en nuestros segundos padres que brindan de todos sus conocimientos para hacer de sus alumnos excelentes profesionales.

A mi directora de tesis, Lic. Iliana Delgado, quien con su esfuerzo y dedicación permitió que pueda culminar con éxitos el desarrollo de la tesis, a ella le estoy eternamente agradecida. Además quiero agradecer a la Lic. Cecilia Quezada Ojeda, propietaria del Laboratorio Clínico “Reina de El Cisne” de la ciudad de Machala, quien de manera incondicional y voluntaria donó las cepas control que se requerían para el estudio.

Índice

Carátula.....	i
Certificación.....	ii
Autoría.....	iii
Carta de autorización.....	iv
Dedicatoria.....	v
Agradecimiento.....	vi
1. Título.....	1
2. Resumen.....	2
Summary.....	3
3. Introducción.....	4
4. Revisión de literatura.....	6
4.1 Aparato Reproductor Femenino.....	6
4.1.1 Vagina.....	6
4.1.2 Vulva.....	7
4.2 Levaduras.....	8
4.2.1 Características generales.....	8
4.2.2 Morfología y fisiología.....	9
4.2.3 Formas de reproducción.....	10
4.2.4 Tipos de levaduras.....	13
4.3 <i>Candida</i>	13
4.3.1 Taxonomía.....	14
4.3.2 Especies de <i>Candida</i> más frecuentes.....	16
4.3.3 Mecanismos de defensa del cuerpo contra <i>Candida</i>	19
4.3.4 Características de <i>Candida</i> spp.	19
4.4 Candidiasis.....	21
4.4.1 Candidiasis vulvovaginal.....	21
4.4.2 Epidemiología.....	22
4.4.3 Edad y sexo.....	23
4.4.4 Patogenia.....	23
4.4.5 Factores de predisposición.....	25
4.5 Diagnóstico de Laboratorio.....	26

4.5.1 Examen directo	26
4.5.2 Cultivos.....	26
4.5.3 Pruebas inmunológicas	28
5. Materiales y Métodos.....	29
5.1 Tipo de Estudio.....	29
5.2 Área de Estudio.....	29
5.3 Universo.....	29
5.4 Muestra	29
5.5 Criterios de Inclusión y Exclusión.....	30
5.5.1 Criterios de Inclusión.....	30
5.5.1 Criterios de Exclusión.....	30
5.6 Métodos, Técnicas y Procedimientos	31
5.7 Tabulación, análisis e interpretación de datos	32
6. Resultados.....	33
7. Discusión.....	36
8. Conclusiones.....	39
9. Recomendaciones.....	40
10. Bibliografía.....	41
11. Anexos	44
Anexo 1.- Autorización para la recolección de muestras en el Centro de Salud N° 1 de Loja por parte de la Directora del distrito 11D01 de Loja, Dra. Carlota Villamarín.	44
Anexo 2.- Autorización para el procesamiento de las muestras en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja.	50
Anexo 3.- Formato del Consentimiento Informado	51
Anexo 4.- Condiciones pre-analíticas para la toma de muestra de secreción vaginal	52
Anexo 5.- Registro del paciente.....	53
Anexo 6.- Protocolo para la toma de muestra de secreción vaginal	57
Anexo 7.- Protocolo para la conservación y transporte de las muestras de secreción vaginal..	59
Anexo 8- Preparación del medio Agar SABOURAUD.....	63
Anexo 9.- Inserto de Agar SABOURAUD.....	65
Anexo 10.- Preparación del medio de CHROMagar- <i>Candida</i>	67
Anexo 11.- Inserto del medio de CHROMagar- <i>Candida</i> emitido por el fabricante.....	70
Anexo 12.- Protocolo para el método de KOH.....	72

Anexo 13.- Procedimiento para el cultivo de la muestra en el medio Agar SABOURAUD ..	75
Anexo 14.- Protocolo para realizar el control de calidad con cepas conocidas de <i>Candida</i> ...	77
Anexo 15.- Protocolo para el cultivo de colonias aisladas de <i>Candida</i> en el medio de CHROMagar- <i>Candida</i>	79
Anexo 16.- Registro de resultados	82
Anexo 17.- Informes del resultado obtenido.....	87
Anexo 18.- Protocolo para eliminación de residuos microbiológicos	88
12.Apéndice.....	90
Apéndice 1.- Certificado de Traducción del Resumen	90
Apéndice 2.- Evidencia fotográfica	90

1. Título

Tipificación de *Candida* en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil que acuden al Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja.

2. Resumen

Candida es un tipo de hongo levaduriforme que se encuentra en diferentes zonas del cuerpo, como la vagina; sin embargo, se considera un patógeno oportunista que depende de factores propios de virulencia y factores favorecedores del hospedero para causar la infección. La especie más frecuentemente aislada en la zona vaginal es *Candida albicans*, sin embargo, estudios realizados en la actualidad indican que en los últimos años se ha incrementado las especies de *Candida no albicans* como *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida pseudotropicalis* y *Candida krusei*. Para llevar a cabo la presente investigación se plantearon los siguientes objetivos: identificar la presencia de estructuras micóticas en muestras de secreción vaginal mediante la prueba de KOH, identificar el crecimiento de colonias en Agar Sabouraud e identificar la especie de *Candida* mediante el cultivo en CHROMagar-*Candida*. En el presente estudio de tipo descriptivo y de corte transversal, se obtuvo un total de 130 muestras de secreción vaginal; las pruebas que se aplicaron fueron: KOH (Hidróxido de potasio), Agar Sabouraud, CHROMagar-*Candida*. Tras la aplicación de la prueba de KOH se obtuvo el siguiente resultado: levaduras (60.8%), pseudohifas (13.1%) y estructuras mixtas de levaduras y pseudohifas (26.1%). Así mismo, luego de realizar el cultivo en Agar Sabouraud se pudo observar que del 100% de las muestras procesadas, todas presentaron el crecimiento de colonias lisas, cremosas y de color blanco–amarillenta, características de *Candida*; finalmente el cultivo en CHROMagar-*Candida* permitió identificar las siguientes especies de *Candida*: con mayor predominancia *Candida krusei* con el 69.2 %, seguido de *Candida albicans* con 29.2 %, y *Candida glabrata* con el 1.6 %.

Palabras clave: Factores de virulencia, *Candida*, KOH, Agar Sabouraud, CHROMagar-*Candida*.

Summary

Candida is a type of yeast-like fungus found in different areas of the body, such as the vagina; however, it is considered an opportunistic pathogen that depends on virulence factors favoring the host to cause infection. The most frequently isolated species in the vaginal area is *Candida albicans*, but nevertheless, studies carried out nowadays indicate that in recent years it has increased the species of *Candida* not *albicans* such as *Candida glabrata*, *Candida tropicalis*, *Candida pseudotropicalis* and *Candida krusei*. In order to carry out the present investigation, the following objectives were proposed: to identify the presence of fungal structures in samples of vaginal secretion by means of the KOH test, to identify the growth of colonies in Sabouraud Agar and to identify the species of *Candida* through the culture in CHROMagar- *Candida*. In the present descriptive and cross-sectional study, a total of 130 vaginal discharge samples were obtained; the tests that were applied were: KOH (Potassium hydroxide), Sabouraud Agar, CHROMagar-*Candida*. After the application of the KOH test the following result was obtained: yeasts (60.8%), pseudohyphae (13.1%) and mixed structures of yeasts and pseudohyphae (26.1%). Likewise, after carrying out the cultivation in Sabouraud Agar, it was observed that of the 100% of the samples processed, all presented the growth of smooth, creamy and yellowish-white colonies, characteristics of *Candida*; finally the culture in CHROMagar-*Candida* allowed to identify the following species of *Candida*: with greater predominance *Candida krusei* with 69.2%, followed by *Candida albicans* with 29.2%, and *Candida glabrata* with 1.6%.

Key words: Virulence factors, *Candida*, KOH, Sabouraud Agar, CHROMagar-*Candida*.

3. Introducción

Candida spp. es un hongo que se encuentra formando parte de la flora biológica natural del cuerpo humano, al cual también se lo considera como un patógeno oportunista que depende de factores propios de virulencia y factores favorecedores del hospedero para causar la infección (Delmonte, Fernández, Robertiz, González, & Arcaya, 2017).

Entre un 20-50% de las mujeres presenta en su zona vaginal *Candida* spp. sin que esto signifique que exista una infección. Éstas mujeres son completamente asintomáticas ya que el pH ácido de la vagina, el sistema inmunológico y la presencia de una flora bacteriana vaginal, impiden que la *Candida* spp. se multiplique. La infección vaginal solamente surge si hay alguna alteración en por lo menos uno de los tres factores de protección mencionados anteriormente (Pinheiro, 2018).

Según la Asociación Española de Ginecología y Obstetricia (AEGO, 2017), a nivel mundial el 75% de las mujeres resultan afectadas al menos una vez en su vida y casi el 45% tendrá dos o más crisis por año. La micosis vaginal es frecuente entre las mujeres y los síntomas típicos son: prurito o ardor genital, dispareunia, disuria y la presencia de una secreción vaginal gruesa, blanca y anormal que se adhiere a las paredes de la vagina y al cuello del útero (Strasinger & Schaub di Lorenzo, 2016).

Un artículo publicado por Delmonte, Fernández, Robertiz, González, & Arcaya (2017) sobre la “Frecuencia del género *Candida* en vagina de mujeres en edad Reproductiva”, indica que del 100% de muestras identificada con *Candida*, un 67% presentaron la especie *C. albicans*, seguida de *C. glabrata* con el 17%, y finalmente con un porcentaje igual de *C. krusei* y *C. tropicalis* de 8% cada uno. Asimismo una revista científica publicada por Solís et al. (2014) con respecto a “Colonización vaginal por *Candida* spp. Frecuencia y descripción de las especies aisladas en mujeres asintomáticas”, señala que del 100% de muestras identificadas con *Candida*, el 47% de las especies correspondió a *C. albicans*, el 26% a *C.*

krusei, el 21% a *C. glabrata* y el 15% a *C. tropicalis*.

De acuerdo con estudios epidemiológicos indicados anteriormente, *Candida albicans* es la especie más común de *Candida*. Sin embargo, durante los últimos años se han producido algunos cambios en estos datos y se puede observar que la prevalencia de especies de *Candida no albicans* es cada vez mayor. Esto puede deberse a dos hechos relacionados entre sí, como: un significativo aumento de frecuencia de detección de especies no albicans y una mayor tasa de recurrencias de los episodios de vulvovaginitis. De hecho, el incremento de especies no albicans se ha observado fundamentalmente en los episodios recurrentes, lo que se relaciona con una generalización de terapias inadecuadas (automedicación) para tratar la infección (Solís et al., 2014).

La identificación de especies de *Candida* entre la población no solo ayuda a los profesionales de la salud a elegir tratamientos antimicóticos adecuados, sino que también evitará el desarrollo de resistencia a los medicamentos (Mahmoudi, Zafarghandi, Abbasabadi, y Tavallae, 2011).

La presente investigación tuvo como propósito realizar la Tipificación de *Candida* en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil que acudieron al Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja, para lo cual se planteó objetivos específicos como: 1) identificar la presencia de estructuras micóticas en muestras de secreción vaginal mediante la prueba de KOH, 2) identificar el crecimiento de colonias en Agar Sabouraud y 3) identificar la especie de *Candida* mediante el cultivo en CHROMagar-*Candida*.

El grupo de estudio estuvo conformado por las mujeres en edad fértil (entre 15 a 45 años) que acudieron al Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja durante todo el mes de julio, que presenten en su muestra de secreción vaginal estructuras micóticas; y el proceso para la tipificación de *Candida* se realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja.

4. Revisión de literatura

4.1 Aparato Reproductor Femenino

El aparato genital femenino se halla casi en su totalidad ubicado profundamente en medio de la excavación pelviana; o sea, rodeado de un anillo óseo interiormente revestido por diversos elementos musculares y aponeuróticos que sostiene a los órganos pelvianos, los cuales guardan entre sí una estrecha relación. Se compone de dos partes completamente diferentes (Gori y Lorusso, 2008):

- El ovario: un cuerpo sólido glandular
- Las trompas de Falopio, el útero y la vagina: un complejo conducto, que por su extremo inferior, se comunica con el exterior y termina en un conjunto de formaciones, en su mayoría tegumentarias, llamada vulva.

4.1.1 Vagina

La vagina (vagina = vaina) es un conducto fibromuscular tubular de 10 cm de largo recubierto por una membrana mucosa, que se extiende desde el exterior del cuerpo hasta el cuello uterino; está situada entre la vejiga urinaria y el recto, se orienta en dirección superior y posterior, en donde se une con el útero; un fondo de saco llamado fórnix (arco o bóveda) o fondo de saco vaginal rodea la unión de la vagina con el cuello uterino (Tortora & Derrickson, 2011, p. 1154).

La mucosa de la vagina se encuentra en continuidad con la del útero, desde el punto de vista histológico está formada por un epitelio (plano pavimentoso) escamoso estratificado no queratinizado y tejido conectivo laxo, que se dispone formando pliegues transversales llamados pliegos de la vagina; además, al ser un órgano que participa en el acto sexual es muy propenso a la transmisión de virus (p. ej., el HIV o virus del sida) en la mujer; la mucosa vaginal contiene grandes reservas de glucógeno, que produce ácidos orgánicos al

descomponerse; el ambiente ácido resultante retarda el crecimiento microbiano, pero también es nocivo para los espermatozoides; los componentes alcalinos del semen, secretados sobre todo por las vesículas seminales, elevan el pH del fluido en la vagina y así aumentan la viabilidad de los espermatozoides (Tortora & Derrickson, 2011, p. 1154).

La capa muscular está formada por una capa circular externa y una capa longitudinal interna de músculo liso que puede elongarse considerablemente para adaptarse al tamaño del pene durante las relaciones sexuales y al tamaño del bebé durante el parto; mientras que la adventicia, es la capa superficial de la vagina, que está formada por tejido conectivo laxo. Ésta fija la vagina a los órganos adyacentes, como la uretra y la vejiga urinaria hacia adelante, y al recto y al canal hacia atrás (Tortora & Derrickson, 2011, p. 1155).

4.1.2 Vulva

El término vulva se refiere a los genitales externos de la mujer. La vulva está constituida por los siguientes componentes (Tortora & Derrickson, 2011, p. 1157):

El monte del pubis. Está ubicado anterior a los orificios de la uretra y la vagina, con una elevación de tejido adiposo cubierta por piel y vello púbico grueso que protege la sínfisis pubiana.

Labios mayores. Constituido por dos pliegues longitudinales de piel. Los labios mayores están cubiertos por vello púbico y contienen abundante tejido adiposo, glándulas sebáceas (sebo) y glándulas sudoríparas apócrinas (sudor).

Labios menores. Son dos pliegues de piel más pequeños que se localizan en posición medial a los labios mayores. No tienen vello púbico ni grasa y tienen sólo unas pocas glándulas sudoríparas, pero sí muchas glándulas sebáceas.

El clítoris. Es una pequeña masa cilíndrica compuesta por dos cuerpos de tejido eréctil, los cuerpos cavernosos, y numerosos nervios y vasos sanguíneos. Se localiza en la unión anterior de los labios menores.

Vestíbulo de la vagina. Dentro de él se encuentra el himen (si aún está presente), el orificio vaginal, el orificio uretral externo (meato urinario) y los orificios de los conductos de varias glándulas.

El bulbo del vestíbulo. Está formado por dos masas alargadas de tejido eréctil y están ubicadas por debajo de los labios, a cada lado del orificio vaginal.

4.2 Levaduras

Cuando se clasifican los hongos microscópicos de manera empírica es fácil distinguir dos grupos: los hongos filamentosos y las levaduras. Desde el punto de vista macroscópico, los primeros tienen un crecimiento mohoso porque forman micelio, mientras que las levaduras tienen un crecimiento cremoso o bacteriforme, es decir, muchas colonias no pueden distinguirse a simple vista de las bacterias. Al grupo de levaduras se les puede denominar correctamente *Blastomycetes*; lo cual no implica una taxonomía sino una agrupación morfológica (Bonifaz, 2012, p. 79).

4.2.1 Características generales

Las levaduras son microorganismos que pueden vivir en diversos hábitat y con múltiples fuentes de energías; sin embargo, los carbohidratos son los más importantes; incluso el nombre de la levadura más conocida, *Saccharomyces*, proviene del término *Saccharon*, que significa “azúcar” y es a partir de este como en forma general se puede presentar dos fenómenos: la producción de alcohol, para la elaboración de cerveza y vino; o bien la formación del anhídrido carbónico(CO₂), durante la fabricación del pan (Bonifaz, 2012, p. 80).

4.2.2 Morfología y fisiología

Desde el punto de vista estructural, las levaduras son entidades microbiológicas independientes, por lo general unicelulares, con membrana y pared celular, esta última casi siempre conformada por quitina; su citoplasma contiene vacuolas y el núcleo; este último suele ser pequeño y en ocasiones se confunde con las vacuolas. La pluricelularidad se presenta cuando la levadura forma estructuras elaboradas como seudomicelio (unión de varias células); por ejemplo, *Candida albicans* o casos excepcionales de multigemación, como sucede con hongos como *Paracoccidioides brasiliensis* y *Trigonopsis* sp (Bonifaz, 2012, p. 80).

Tomando como base su forma, las levaduras pueden ser: globosas, ovoides, elongadas, rectangulares, cilíndricas, triangulares, etc. Su tamaño varía en general entre 3-6 μm , pero hay casos extremos; por ejemplo, *Histoplasma capsulatum* presenta levaduras intracelulares que miden de 1-3 μm , mientras que las de *Blastomyces dermatitidis* van de 8-10 μm ; existen algunos géneros que pueden medir hasta 40 μm . La mayoría de levaduras son mesófilas, con temperatura de crecimiento entre 20-48°C, con un promedio de 30-37°C; sin embargo, sólo 2% puede crecer con un rango más amplio (entre 0-50°C), pero sobre todo debajo de los 20°C y cercanos a 0°C (Bonifaz, 2012, p. 80).

En general las levaduras se desarrollan en medios neutros y ligeramente ácidos; su rango óptimo de pH es entre 4.5-6.5 debido a que por su metabolismo llegan a acidificar más su entorno; de forma excepcional crecen en medios básicos (aunque no mayor a 8), pero hay ejemplos de levaduras como *C. albicans*, que tiene dos genes de activación en ambos tipos de pH. La mayoría de los géneros son aeróbicos, salvo aquellos que llevan a cabo procesos de fermentación, los cuales son anaeróbicos o anaerobios facultativos; es decir, las levaduras fermentadoras detienen su crecimiento y multiplicación por la misma falta de oxígeno. Su fuente básica de alimentación son los carbohidratos simples, como glucosa y fructosa, o

disacáridos como sacarosa y maltosa. Algunas especies pueden crecer en altas concentraciones de azúcar y de sal, siendo más adaptadas al primer sustrato que al segundo (Bonifaz, 2012, p. 80).

Existen diversos hongos que presentan una característica de particular interés tanto biológico como clínico: el dimorfismo fúngico, en el cual un hongo puede pasar de la forma micelial a la levaduriforme, dependiendo de dos condiciones: temperatura y nutrientes. Este fenómeno se observa en algunos hongos patógenos de importancia clínica, en donde su forma de levadura se presenta por lo regular al estar parasitando; los ejemplos más característicos son: complejo *Sporothrix schenckii*, *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, *Paracoccidioides brasiliensis* y *Penicillium marneffeii*. Es importante resaltar que el estado levaduriforme se considera el más simple o reducido desde el punto de vista morfológico, por lo que éste es el que se presenta en los tejidos del hospedero (Bonifaz, 2012, p. 81).

Otro grupo de hongos presentan un tipo de "dimorfismo inverso", lo que significa que al infectar o parasitar presentan la forma de micelio y pseudomicelio; el ejemplo característico son las diversas especies de *Candida*, que son capaces de formar ambas estructuras; las especies que más lo hacen son: *C. albicans*, *C. dubliniensis* y *C. tropicalis*, entre otras; una marcada excepción a esta especie patógena oportunista es *Candida glabrata*, la cual no lo produce en estado saprofítico ni parasitario; por esta razón, por muchos años quedó clasificada dentro de otros géneros como *Torula* y *Torulopsis* (Bonifaz, 2012, p. 81).

4.2.3 Formas de reproducción

Las levaduras presentan dos formas de reproducción: asexual o anamórfica y sexual o teleomórfica. Las llamadas "levaduras verdaderas" pueden reproducirse mediante ambas formas, en su mayoría a través de la forma teleomórfica por ascosporas y en algunos casos por basidiosporas; mientras que aquellas levaduras que sólo presentan fase anamórfica son

llamadas "células levaduriformes" y se reproducen principalmente por gemaciones o blastoconidios y excepcionalmente mediante fisión transversal o binaria (Bonifaz, 2012, p. 82).

Reproducción asexual o anamórfica. La formación de un blastoconidio se presenta cuando la célula madre o base inicia con un alargamiento, el protoplasma "empuja" la pared hasta el inicio de la gema, el núcleo se divide y la pared se hace transversal; de esta manera, si las condiciones son las adecuadas, la célula hija se separa por estrangulamiento de la madre, hasta adquirir su independencia, maduración y repetición del fenómeno reproductivo. La mayoría de géneros de interés médico se reproducen de esta manera, por ejemplo, *Candida*, *Cryptococcus*, *Malassezia* y levaduras como *Saccharomyces* y *Hansenula* (Bonifaz, 2012, p. 83).

En general, al iniciarse la formación de nuevas células, éstas son más pequeñas que la madre; sin embargo, en algunas ocasiones, prácticamente antes del desprendimiento celular, la hija tiene el mismo tamaño de la madre, como lo presenta *Blastomyces dermatitidis* (fase levaduriforme o parasitaria), o bien en otras como *Paracoccidioides brasiliensis*, pueden formarse muchas células al mismo tiempo, dando como resultado bigemaciones, trigemaciones y multigemaciones; ambos fenómenos hacen característicos a estos hongos. En situaciones adversas para el hongo, algunos grupos de levaduras pueden mantener a las células hijas sin que se desprendan, hasta formar lo que se conoce como pseudomicelio. La mayoría de especies del género *Candida* lo producen al parasitar o al encontrarse en medios pobres en nutrientes (Bonifaz, 2012, p. 83).

La segunda forma de reproducción asexual es la fisión transversal (binaria), también llamada bipartición o esquizogénesis, se lleva a cabo mediante la duplicación y desplazamiento del material genético, con posterior fragmentación de la célula, dando como resultado dos células de igual tamaño. El ejemplo característico de este fenómeno es el del

género *Schizosaccharomyces*; las especies más conocidas son: *S. pombe*, *Soctosporus* y *S. mellacei* (Bonifaz, 2012, p. 83).

Reproducción sexual o teleomórfica. Se lleva a cabo de dos maneras:

Mediante ascoporas (del griego askos, "saco" o "bolsa"). Es la forma de reproducción más frecuente de las "levaduras verdaderas"; se lleva a cabo por meiosis, o división celular que da origen a células haploides; en algunos casos el proceso es seguido de una o más divisiones mitóticas (Bonifaz, 2012, p. 83).

Las esporas se forman a partir de una bolsa, saco o asca que produce un número determinado y característico de ascoporas (casi siempre en pares); las ascas son cuerpos cerrados, por lo que quedan comprendidos dentro del tipo de los ascocarpos. Algunos ejemplos de esta reproducción son *Saccharomyces*, *Brettanomyces*, *Hansenlda*, *Kluyveromyces*, *Pichia* y *Yarrowia*. La forma y tamaño de las ascoporas es variable y depende de cada especie, de modo que hay formas globosas, ovoides, elongadas, etc. (Bonifaz, 2012, p. 83).

Mediante basidiosporas (del griego basidion, "pequeña base"). Se forman a partir de levaduras haploides, llevando a cabo una fusión celular y la formación de hifas que se ensanchan en su extremo hasta formar una base o basidio; después se hace la fusión nuclear, acoplamiento y meiosis, y se obtiene como resultado final la esporulación de basidiosporas que se eliminan y dispersan. Cada una de las basidiosporas puede tener dos rutas: formar de nuevo una fase teleomórfica similar a la descrita, o bien, pasar a su forma anamórfica o de blastoconidio capsulado para continuar reproducción anamórfica o de gemación. Algunos ejemplos de géneros de levaduras basidiosporadas son *Cryptococcus* y *Rhodotorula* (Bonifaz, 2012, p. 83).

4.2.4 Tipos de levaduras

De forma didáctica es factible clasificar a las levaduras en dos grandes rubros: 1) aquellas que son benéficas o útiles para diversos procesos industriales y farmacológicos y 2) levaduras patógenas (Bonifaz, 2012, p. 84):

Levaduras benéficas. Existe una gran variedad de utilización de levaduras benéficas que sirven para la elaboración de diferentes productos alimenticios como:

- Bebidas alcohólicas y producción industrial de etanol.
- Producción de pan.
- Suplementos alimenticios y probióticos.
- Procesos de biorremediación

Levaduras patógenas. El comportamiento patógeno que tienen estos microorganismos es en especial de tipo oportunista; provoca padecimientos frecuentes como candidosis y criptococosis. Los hongos dimórficos que provienen de estados saprofiticos filamentosos no los consideraremos estrictamente como levaduras; un ejemplo característico es *Histoplasma capsulatum*, que en su fase parasitaria da levaduras intracelulares estrictas. La mayoría de las enfermedades que ocasionan se consideran en los capítulos correspondientes; aquí se presentan sólo las características micológicas más importantes.

4.3 *Candida*

Cándida es el nombre científico de una levadura. Es un hongo que vive en casi todas partes, incluso dentro del cuerpo. Comprende más de 200 especies, pero sólo cerca de 50 tienen un interés médico y de éstas alrededor de ocho son las más frecuentes; sobresale *Candida albicans*, la que puede aislarse entre 40 hasta 85% de los casos. *Candida* spp., son levaduras que no producen pigmentos melánicos, y su forma puede variar según la especie: globosas, ovoides, elípticas y cilíndricas; su reproducción asexual o anamórfica es por

blastoconidios (holoblástica) y la mayoría de las especies patógenas pueden formar pseudohifas e hifas verdaderas, con excepción de *Candida glabrata* (Bonifaz, 2012, p. 86).

4.3.1 Taxonomía

Originalmente se describieron como clase *Blastomycetes*; del orden Moniliales; familia *Cryptococcaceae*. Con la actual taxonomía basada en secuenciaciones de genes, se clasifican dentro de la clase Ascomycetes, subclase Hemyascomycetes; orden *Saccharomycetales*. Están emparentadas con el género *Saccharomyces*; y de manera particular, *C. glabrata* (Arenas, Micología Médica Ilustrada , 2014, pág. 241). En la tabla 1 se presenta la taxonomía del género y en la tabla 2 se separa las especies oportunistas y benéficas de *Candida* spp. (Bonifaz, 2012, p. 86).

Clase:	Ascomycetes
Subclase:	<i>Hemyascomycetes</i>
Orden:	<i>Saccharomycetales</i>
Familia:	<i>Saccharomycetes</i>
Género:	<i>Pichia, Hansenula, Arxiozyma</i> (estado teleomórficos)
Especies:	A los estados anamórficos se les denomina <i>Candida</i> y los ejemplos más importantes son:
	<i>C. albicans</i>
	<i>C. glabrata</i>
	<i>C. tropicalis</i>
	<i>C. parapsilosis</i>
	<i>C. dubliniensis</i>

Tabla 1 Taxonomía del genero *Candida*.

Fuente: Micología médica básica.

Autor: Alexandro Bonifaz

Nombre Anamorfo	Nombre Teleomorfo
De interés médico o patógeno	
<i>Candida albicans</i>	No descrito
<i>Candida dubliniensis</i>	No descrito
<i>Candida famata</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>
<i>Candida glabrata</i>	No descrito
<i>Candida guilliermondii</i>	<i>Pichia guilliermondii</i>
<i>Candida kefyr</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
<i>Candida krusei</i>	<i>Issatchenkia orientalis</i>
<i>Candida lusitanae</i>	<i>Clavispora lusitanae</i>
<i>Candida parapsilosis</i>	No descrito
<i>Candida tropicalis</i>	No descrito
De interés benéfico o industrial	
<i>Candida famata</i>	<i>Debaryomyces hansenii</i>
<i>Candida kefyr</i>	<i>Kluyveromyces marxianus</i>
<i>Candida pelliculosa</i>	<i>Pichia anómala</i>
<i>Candida lambica</i>	<i>Pichia fermentans</i>
<i>Candida lipolytica</i>	<i>Yarrowia lipolytica</i>
<i>Candida migii</i>	<i>Zygosaccharomyces rouxii</i>

Tabla 2 Especies oportunistas y benéficas de *Candida* spp.

Fuente: Micología médica básica.

Autor: Alexandro Bonifaz

4.3.2 Especies de *Candida* más frecuentes

Candida albicans.- Dos patrones de crecimiento en el agar harina de maíz son útiles para su identificación: 1) producción de clamidosporas, 2) blastoconidios que se disponen en los racimos densos distribuidos de modo uniforme a lo largo de las pseudohifas o ambos. La revisión de estos patrones en agar harina de maíz es muy útil para la identificación de cepas que no producen tubos germinales; el crecimiento de colonias de *Candida albicans* también puede llevar a una identificación presuntiva; los bordes de las colonias a menudo presentan espículas radiadas en los cultivos más viejos. Si la prueba del tubo germinal es negativa y no se observan clamidosporas en las preparaciones en fresco del agar harina de maíz, es probable que se haya aislado una levadura distinta de *Candida albicans*. El paso siguiente es observar los patrones de crecimiento en el agar harina de maíz para realizar una identificación presuntiva de otra especie de *Candida*. Para reiterar, es importante revisar los patrones de crecimiento en el agar harina de maíz como una verificación del control de calidad en las identificaciones de la especie proporcionadas por sistemas automatizados y equipos comerciales, ya que éstos no siempre son correctos (Koneman, 2008).

Candida tropicalis.- produce pseudohifas con blastoconidios que nacen de modo individual o en racimos irregulares pequeños a lo largo de las pseudohifas en los puntos de estrechamiento. Como este patrón no es específico, son necesarios los estudios de asimilación de hidratos de carbono o la identificación a través del uso de alguno de los sistemas de identificación de levaduras (Koneman, 2008).

Candida parapsilosis.- Lo importante para su identificación es la observación de áreas focales múltiples de crecimiento satélite adyacente a las líneas de siembra que forman lo que familiarmente se ha descrito como patrones de "artemisia", de "cerillas entrecruzadas" o de "arañas". Una vez observado, este patrón se comparará con los códigos de identificación de los sistemas comerciales (Koneman, 2008).

Candida pseudotropicalis.- Lo fundamental es la observación de abundantes blastoconidios alargados o rectangulares que forman racimos laxos entrecruzados característicos que se asemejan a la disposición de "leños en el arroyo". *C. krusei* también produce un patrón similar, salvo que los puntos de origen están agrupados de modo secuencial como ramas de un árbol, para diferenciar estas dos especies pueden ser necesarios los estudios de asimilación de hidratos de carbono (Koneman, 2008).

Otras especies patógenas emergentes de *Candida*.- Es importante la identificación definitiva de las especies de *Candida* no *albicans* para detectar las cepas patógenas emergentes, en especial las que han adquirido resistencia a los fármacos antimicóticos. *Candida krusei* es resistente al ketoconazol; *Candida dubliniensis*, con un fenotipo estrechamente relacionado con *Candida albicans*, en particular las cepas aisladas en pacientes con muguet orofríngeo, ha adquirido resistencia inducida al fluconazol. Estas cepas pueden identificarse en el laboratorio mediante la demostración de las siguientes características (Koneman, 2008):

- Incapacidad para crecer a 45 °C.
- Aspecto de colonias rugosas con "pies" en el agar semillas de níger (*C. albicans* produce colonias de bordes lisos).
- Producción de pseudohifas y clamidosporas en el agar semillas de níger (*C. albicans* sólo produce blastoconidios redondos u ovals).
- Presencia de colonias azul oscuro en CHROMagar *Candida*.
- Perfiles de asimilación de hidratos de carbono en los sistemas de identificación de levaduras API 20C AUX o Vitek. *C. dubliniensis*, a diferencia de *C. albicans*, no puede utilizar la D-xilosa, la trehalosa ni la metil-D-glucosidasa.
- Sondas de DNA específicas de especie.

En ciertos linajes de *Candida lusitanae* ha surgido resistencia esporádica a la anfotericina B a través de un mecanismo del cambio de colonias antes sensibles. De nuevo, es importante identificar estas cepas patógenas emergentes en el laboratorio clínico para evitar la administración empírica de agentes antimicóticos a los cuales presentan resistencia (Koneman, 2008).

Estos hongos son oportunistas y se convierten en patógenos cuando existen alteraciones de la inmunidad celular, como: en pacientes inmunodeficientes, como consecuencia de cambios fisiológicos de la flora normal y por cambios en el metabolismo de carbohidratos. En la vagina el principal mecanismo de extensión de las lesiones es la autoinoculación a partir de la región anorrectal por una mala técnica de aseo personal (Arenas, 2014, p. 242).

Otros factores que influyen son diabetes, inmunodepresión (corticosteroides, inmunosupresores), embarazo, tratamientos hormonales, uso de ropas sintéticas ajustadas, traumatismos y desgarros vinculados con el coito. La frecuencia de episodios recurrentes se relaciona con cifras altas de hialuronato, y son secundarios al incremento de la interleucina (IL)-12 y la IL-23 presentes en el flujo vaginal (éstas poseen acción bacteriostática, fungistática e inflamatoria). Cuando se establece la infección, las concentraciones de hialuronato aumentan y se relacionan con síntomas locales como prurito o ardor (Arenas, 2014, p. 242).

En diabéticos, las alteraciones metabólicas conllevan una mayor concentración de glucosa que favorece la proliferación de la levadura en mucosas; asimismo, la glucosilación no enzimática de las proteínas por alteraciones en el metabolismo de carbohidratos propicia las infecciones diseminadas, y en la vagina promueve cambios del pH local que propician el desarrollo de *Candida* spp. Otras alteraciones en la diabetes no controlada son la disminución en la capacidad quimiotáctica y fagocítica de los neutrófilos (Arenas, 2014, p. 242).

4.3.3 Mecanismos de defensa del cuerpo contra *Candida*

La primera defensa es la inmunidad innata que se relaciona con integridad de los epitelios, factores humorales inespecíficos y sistema inmunitario humoral o celular. Se le atribuye a la piel una actividad inflamatoria-inmunitaria, además de su función de barrera, donde intervienen las células de Langerhans y los queratinocitos como células presentadoras de antígenos que afectan la fagocitosis, o la producción de citocinas o ambas. También existe una función de las proteínas ligadas a hierro, como transferrina y lactoferrina (Arenas, 2014, p. 243).

La segunda línea de defensa después de la penetración fúngica está dada por la fagocitosis y la actividad candidicida de los polimorfonucleares, la cual involucra mieloperoxidasa, superóxidos o proteínas catiónicas. Dichas infecciones muestran vínculo sobre todo con neutropenia e inactividad de polimorfonucleares. Los neutrófilos constituyen el principal mecanismo de defensa en candidosis diseminada e invasiva; participan de manera importante en el reclutamiento de polimorfonucleares (Arenas, 2014, p. 243).

4.3.4 Características de *Candida* spp.

Entre las características del microorganismo que podría contribuir a su potencial patógeno se encuentran la capacidad de adhesión a tejidos, el dimorfismo levadura-micelio, la hidrofobicidad de su superficie celular, la secreción de proteinasas y el cambio de fenotipo.

Se cree que la capacidad de adhesión a distintos tejidos y superficies inanimadas es importante en las fases iniciales de la infección por *Candida* y presenta una relación directa con su nivel de virulencia. La adhesión se lleva a cabo por medio de la combinación de mecanismos específicos (interacción de un ligando con su receptor) e inespecíficos (fuerzas electrostáticas de van der Waals) (Murray, Rosenthal, y Pfaller, 2014, p. 617).

Durante mucho tiempo se ha considerado que la capacidad de transformación de la fase de levadura a una forma micelial influye en el potencial patógeno. La mayoría de las especies de *Candida* pueden someterse a esta transformación, que se encuentra regulada por el pH y la temperatura. La transformación dota a *Candida* de un mecanismo de respuesta a las alteraciones ambientales. Las hifas de *C. albicans* muestran tigmotropismo (sentido del tacto); esta propiedad les permite crecer a lo largo de surcos y a través de poros, y podría facilitar la infiltración de las superficies epiteliales (Murray, Rosenthal, y Pfaller, 2014, p. 617).

La composición de la superficie celular del género *Candida* puede afectar tanto a la hidrofobicidad de la célula como a la respuesta inmunitaria a la misma. El tipo y el grado de glucosilación de las manoproteínas de superficie pueden incidir en la hidrofobicidad de la célula y, por ende, en la adhesión a las células epiteliales. Las distintas glucoproteínas de esta especie inhiben también la respuesta inmunitaria al microorganismo mediante ciertos mecanismos que aún no se conocen adecuadamente (Murray, Rosenthal, y Pfaller, 2014, p. 617).

La capacidad de secreción de diversas enzimas también puede influir en el potencial patógeno de este género. Algunas especies de *Candida* secretan aspartilproteinasas que hidrolizan proteínas pertenecientes a las defensas del hospedador frente a la infección, lo que permite que atraviesen las barreras del tejido conjuntivo. De la misma manera, casi todas las especies de *Candida* que provocan enfermedad en el ser humano generan fosfolipasas, unas enzimas que provocan daños en las células del hospedador y desempeñan un papel significativo en el proceso de invasión hística (Murray, Rosenthal, y Pfaller, 2014, p. 617).

La capacidad del género *Candida* de pasar rápidamente de un morfotipo a otro se denomina cambio de fenotipo. En un principio se aplicó a la modificación de la morfología macroscópica de las colonias, pero en la actualidad se sabe que los distintos cambios

fenotípicos observados en los medios de cultivo sólido representan diferencias en la formación de yemas e hifas, la expresión de glucoproteínas de pared celular, la secreción de enzimas proteolíticas, la sensibilidad al daño oxidativo causado por los neutrófilos y la sensibilidad y resistencia al hongo. El cambio de fenotipo contribuye a la virulencia de este género al permitir que el microorganismo se adapte con rapidez a los cambios acontecidos en su entorno, facilitando su capacidad de supervivencia, invasión de tejidos y evasión de las defensas del hospedador (Murray, Rosenthal, y Pfaller, 2014, p. 617).

4.4 Candidiasis

Micosis causada por diversas especies de levaduras oportunistas del género *Candida*, en especial *Candida albicans*; presenta una variedad de cuadros clínicos; afecta en particular mucosas (boca, vagina, etc.), piel, uñas y de manera excepcional otros órganos como pulmones e intestino (Bonifaz, 2012, p. 322).

4.4.1 Candidiasis vulvovaginal

La candidosis vulvovaginal es producida por una infección por la levadura *Candida*. Es una causa frecuente de vaginitis, y casi el 75% de las mujeres adultas presentan al menos una infección por levadura en el transcurso de su vida. La mayoría de las infecciones por levadura son causadas por *C. albicans*, pero se aislaron como causales tres especies distintas de *C. albicans*, como *C. galbrata*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* y *C. krusei* (Strasinger y Schaub di Lorenzo, 2016, p. 278).

Candida es parte de la flora vaginal normal y aparece una infección cuando existe un cambio en el medio ambiente de la vagina que permite que se produzca la proliferación de *Candida* y los síntomas de la infección. Los trastornos que pueden provocar un cambio en el medio ambiente vaginal incluyen el uso de antibióticos de amplio espectro, antibióticos por vía oral o terapia de reposición de estrógenos, los cambios hormonales que se manifiestan en

el embarazo, la ovulación y la menopausia. Se presentan tasas de infección más elevadas en pacientes inmunocomprometidas con trastornos como diabetes mellitus, deficiencia de hierro e infección por HIV. La infección predomina en mujeres de edad fértil que producen grandes cantidades de estrógenos. Estos hacen que la vagina madure y produzca glucógeno, o que facilita la proliferación y la adherencia de *C. albicans* (Strasinger y Schaub di Lorenzo, 2016, p. 278).

Sintomatología. Los síntomas típicos de la candidiasis vulvovaginal son: prurito o ardor genital; dispareuria; disuria y la presencia de una secreción vaginal gruesa, blanca y anormal, similar al requesón. El pH del líquido vaginal se mantiene normal (3.8 a 4.5) y la prueba de las aminas es negativa. En el examen en fresco con solución salina y KOH y la tinción de Gram se observan formas levaduriformes en gemación y pseudohifas, gran cantidad de leucocitos, lactobacilos y grandes agrupaciones de células epiteliales (Strasinger y Schaub di Lorenzo, 2016, p. 278).

4.4.2 Epidemiología

Las mucosas genitales son saprofitadas por *Candida*. En el hombre es menos frecuente y se puede encontrar de 0 a 10%, en cambio; en vagina, por su propia condición anatómica, *Candida* spp., habitan en equilibrio con otros microorganismos como el bacilo de Döderlein (*Lactobacillus*); en mujeres no embarazadas y, dependiendo de sus hábitos higiénicos, del uso de dispositivos intrauterinos, tratamientos anticonceptivos orales, entre otros, se puede encontrar en un porcentaje que va desde 5 hasta 30%. En mujeres embarazadas, la flora de *Candida* se incrementa desde 30 hasta 75% debido, entre otras cosas, a desequilibrios con la flora bacteriana, aumento de glucógeno, cambios de pH y disminución de la respuesta inmune. Las diversas especies de *Candida* no son frecuentes en piel sana, aunque de vez en cuando se les ha hallado en región perianal, interdigital y umbilical (Bonifaz, 2012, p. 322).

4.4.3 Edad y sexo

La Candidiasis afecta a ambos sexos por igual; sólo los casos genitales son más frecuentes en la mujer por las condiciones anatómicas propias de la vagina (Bonifaz, 2012, p. 323). Ocurre por lo general en la edad reproductiva, aunque es posible verla en niñas recién nacidas, lo cual es atribuible a los altos niveles hormonales heredados de la madre y a la colonización de las mucosas durante el parto. La vulvovaginitis por *Candida* se puede presentar con frecuencia en la pubertad, por el mismo cambio hormonal. En mujeres adultas ancianas, más bien se atribuye a enfermedades o procesos concomitantes, como la diabetes y antibioticoterapia (Bonifaz, 2012, p. 226).

4.4.4 Patogenia

Considerada como una clásica enfermedad producida por hongos patógenos oportunistas, la candidosis requiere forzosamente de factores predisponentes; la mayor parte de las veces se origina de manera endógena, casi siempre atribuible a dos procesos: el desequilibrio de la flora microbiana, que favorece el incremento de levaduras de *Candida*, lo cual se puede deber a cambios en el pH, acumulación de nutrientes como el glucógeno, o la disminución de la flora bacteriana por antibióticos; o bien debido a enfermedades o procesos que influyan en la respuesta inmune, sobre todo a nivel celular, por ejemplo defectos en el número o función de leucocitos polimorfonucleares (PMN) y linfocitos T y B (Bonifaz, 2012, p. 324).

En el desarrollo del padecimiento influyen una serie de factores que actúan de manera coordinada; los más importantes son los siguientes:

Adaptación al pH. Las diversas especies de *Candida* tienen una gran adaptación a diversos medios y sustratos; así, la capacidad de soportar los cambios del pH es el mejor ejemplo. Esta propiedad está regida por dos genes (PHR1 y PHR2); ambos se activan o inactivan en diferentes condiciones; el primero se activa en pH neutro o ligeramente básico (cuando está

en sangre o piel alcalinizada) y se inactiva en medio ácido, activándose a su vez el segundo (por ejemplo en vagina) (Bonifaz, 2012, p. 324).

Adhesinas. Son una serie de sustancias que influyen en la adaptación o adhesión de la levadura; su presencia está bien comprobada en *C. albicans* y *C. glabrata*. Las más importantes son las manoproteínas, las mananas y, por parte de las células receptoras o del hospedero, las manoproteínas de superficie tipo lectina, las cuales están reguladas por genes específicos. Las más importantes son: Als1p, Als5p, Hwp-1p, Int1p y Mnt1p (Bonifaz, 2012, p. 324).

Enzimas. Se han reportado como factores de virulencia de las especies de *Candida* a diversas enzimas; las más importantes son: queratinasas, peptidasas, hemolisinas, proteasas y hialuronidasas. En forma específica: aspartil-proteinasa secretora, fosfolipasas y lipasas (Bonifaz, 2012, p. 324).

Transición morfológica. Es la capacidad que tienen estas levaduras de cambiar morfológicamente de blastoconidio a pseudohifa e hifa. Este cambio es estimulado por las condiciones ambientales y se considera uno de los factores de patogenicidad o virulencia más significativos. Es preciso enfatizar que esta propiedad hace que dichas levaduras se comporten como hongos dimórficos; las formas de pseudofilamentos y filamentos son las que marcan infección. Este proceso tiene excepción en *C. glabrata*, que no sufre cambios morfológicos, por lo que se considera una levadura monomórfica, muy parecida a *Saccharomyce* (Bonifaz, 2012, p. 324).

Switching fenotípico. Entendido como la capacidad que tienen estas levaduras de hacer grandes cambios fenotípicos, como son diferencias en la macromorfología colonial (colonias lisas, rugosas), y cambios en la antigenicidad, como aumento o disminución en la producción de enzimas y toxinas. Este fenómeno de cambio fenotípico se da a manera de una estrategia del agente frente a las diferentes células que ataca (Bonifaz, 2012, p. 325).

Formación de biopelículas o biofilms. Es una propiedad de patogenicidad, la cual presentan diversos agentes, como las bacterias *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas sp* y otras levaduras. Una biopelícula es una comunidad de microorganismos adheridos a una superficie que permanecen unidos con fuerza por sustancias poliméricas secretadas por ellos mismos. Esta conformación le da alta capacidad defensiva, persistencia y mayor resistencia al ataque de los antibióticos y antimicóticos. *C. albicans* y *C. parapsilosis* son las dos especies con mayor capacidad de formar estas películas. Las localizaciones donde se ha estudiado este fenómeno son: mucosa oral, vaginal e incluso catéteres; se calcula que en promedio 50% de las infecciones tiene origen en una biopelícula; de aquí la importancia para su estudio (Bonifaz, 2012, p. 324).

4.4.5 Factores de predisposición

Puede ser cualquiera de los ya citados en concreto para el oportunismo, pero aquí se mencionan los más frecuentes y específicos para esta entidad, (Bonifaz, 2012, p. 323):

- Factores fisiológicos. Cambios de pH, de manera notable en vagina y boca, embarazo.
- Enfermedades o procesos debilitantes. Diabetes, tuberculosis, absceso hepático amibiano y desnutrición.
- Inmunodeficiencias primarias o adquiridas. Leucemias, linfomas, enfermedad de Hodgkin, infección por VIH-SIDA y, para el caso específico de la candidosis mucocutánea generalizada, agammaglobulinemias; síndrome de Di George, timomas, hipoparatiroidismo e hipoadreno-cortisolismo.
- Iatrogénicos. Tratamientos prolongados con antibióticos, corticoesteroides y citotóxicos; tratamientos anticonceptivos orales y dispositivos intrauterinos. Cateterismo y procesos quirúrgicos invasivos.

- Misceláneo. Dermatosis inflamatorias previas (dermatitis por contacto y del área del pañal), traumatismos ungueales, mal estado de la dentadura, prótesis dentales mal adaptadas y humedad.

4.5 Diagnóstico de Laboratorio

4.5.1 Examen directo

El material obtenido se coloca entre portaobjetos y cubreobjetos con un aclarante, de preferencia hidróxido de potasio (KOH) de 10 a 20%. Se pueden realizar también tinciones como Gram, Wright, Giemsa, PAS e incluso Papanicolaou. Al microscopio se observan grandes cúmulos de blastoconidios de aproximadamente 2 a 4 μ m de diámetro y pseudohifas cortas o largas e hifas, que determinan el estado patógeno y virulento de la levadura y confirman el diagnóstico (Bonifaz, 2012, pág. 333).

4.5.2 Cultivos

Las diversas especies de *Candida* crecen en la mayor parte de medios de cultivo habituales, como son: Sabouraud agar, gelosa sangre, infusión de cerebro, corazón y extracto de levadura. Es importante saber que *C. albicans* y *C. dubliniensis* crecen en los medios de Sabouraud más antibióticos; sin embargo, algunas otras especies son inhibidas por la cicloheximida (*C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. krusei* y *C. zeylanoides*), por lo que se recomienda hacer las siembras a la par en medios Sabouraud agar y extracto de levadura agar. Las características de las colonias en la mayor parte de medios son similares, crecen en 2 a 3 días a 28 a 37°C, dando colonias blanquecinas, lisas (en ocasiones rugosas), húmedas, limitadas, opacas y en algún momento se observan pseudomicelio y micelio dentro del agar (Bonifaz, 2012, pág. 333).

Hay medios de cultivo selectivos para el género *Candida*, como el Biggy (Nickerson), que contiene gran cantidad de citratos que eliminan la flora bacteriana, así como sulfitos que son reducidos a sulfuros; de esta manera las colonias se ven de color café claro u oscuro, lo que las hace distinguibles de otros hongos levaduriformes y se considera un excelente medio de primo-aislamiento, por lo que es muy útil para el trabajo rutinario (Bonifaz, 2012, pág. 333).

En la actualidad ha surgido una serie de medios de cultivo cromogénicos que permiten hacer una identificación desde los primeros aislamientos; por ejemplo, el medio pionero de CHROMagar-*Candida* que está hecho a base de sales cromógenas y enzimas, que permiten el desarrollo de las especies más comunes de *Candida*, mediante la formación de colonias coloridas, perfectamente diferenciadas: *C. albicans* (verde-claro); *C. dubliniensis* (verde-oscuro); *C. tropicalis* (azul-gris); *C. krusei* (rosa pálido); *C. glabrata* (rosa intenso); *Candida* spp. (blanco-crema) y *Geotrichum candidum* (púrpura) (Bonifaz, 2012, pág. 333).

Este medio tiene una alta especificidad, que va por arriba de 90%. Su utilidad radica en que con el solo primo-aislamiento se sabe por lo general la especie causante, lo cual disminuye el costo de la identificación por medio de pruebas bioquímicas; además, también permite reconocer infecciones mixtas, sobre todo en pacientes que se hallan muy inmunosuprimidos. Se considera que es el medio de cultivo más eficaz para el aislamiento e identificación presuntiva de las especies más frecuentes del género *Candida* (Bonifaz, 2012, pág. 333).

El hecho de que exista un cultivo positivo no necesariamente indica una candidosis, debido a que *Candida* forma parte de la flora humana; por eso es importante la correlación de los aspectos clínicos y micológicos para confirmar el diagnóstico (Bonifaz, 2012, pág. 333).

4.5.3 Pruebas inmunológicas

Intradermorreacción a la candidina. Puede ser monovalente (de *C. albicans*) o polivalente (de diversas especies de *Candida*); ambas indican en exclusiva primo-contacto y, por lo regular, es positivo en todo tipo de personas. En la actualidad esta prueba, se utiliza para valorar hipersensibilidad tardía. La dosis empleada es una décima de antígeno (dilución 1:2000) aplicada vía intradérmica, y se lee a las 48 horas más de 5 mm de induración y eritema, se considera positiva. Es importante saber que se ha estado empleando la intradermorreacción de candidina como tratamiento de verrugas vulgares (virales), debido a la estimulación inmunológica que produce (Bonifaz, 2012, pág. 334).

Serología. Recomendable sobre todo para los casos profundos y sistémicos, o bien cuando se reportan títulos altos y repetidos. Las técnicas más usadas son precipitación, fijación de complemento, inmunofluorescencia directa o indirecta. Es importante citar que se han reportado cruces inmunológicos con algunas variedades de *Salmonella* sp., lo que les resta importancia (Bonifaz, 2012, pág. 334).

5. Materiales y Métodos

5.1 Tipo de Estudio

El presente estudio es de tipo descriptivo y de corte transversal.

5.2 Área de Estudio

La población de estudio se obtuvo del Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja y el procesamiento de las muestras realizó en el laboratorio de Microbiología de la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja.

5.3 Universo

Mujeres en edad fértil que acuden al Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja durante todo el mes de julio.

5.4 Muestra

El presente estudio estuvo conformado por 130 muestras de secreción vaginal que cumplían con los criterios de inclusión y exclusión.

Cálculo

Para el cálculo de la muestra se tomó como referencia el número de pacientes que presentaron estructuras micóticas en secreción vaginal durante en el mes de julio de 2017.

Datos:

N: Tamaño de la muestra (110)

Z_{α^2} : Nivel de confianza del 99% (2.33)

p: Probabilidad de éxito (0.5)

q: Probabilidad de fracaso (0.5)

e: Margen de error 1% (0.01)

Fórmula de la muestra:

$$n = \frac{N \cdot p \cdot q \cdot Z\alpha^2}{e^2 (N - 1) + p \cdot q \cdot Z\alpha^2}$$

Fórmula aplicando los datos:

$$n = \frac{(110) \cdot (0.5) \cdot (0.5) \cdot (2.33)^2}{0.01^2 (110 - 1) + (0.5) \cdot (0.5) \cdot (2.33)^2}$$

$$n = \frac{(27.5) \cdot (5.4289)}{0.0001 (109) + (0.25) \cdot (5.4289)}$$

$$n = \frac{149.29475}{0.0109 + 1.357225}$$

$$n = \frac{149.29475}{1.368125}$$

$$n = 109$$

5.5 Criterios de Inclusión y Exclusión**Criterios de Inclusión**

- Pacientes que estén de acuerdo con ser parte de la investigación y que otorguen su consentimiento informado.
- Mujeres en edad fértil entre 15 a 45 años que asistan al laboratorio clínico del Centro de Salud N° 1 de Loja.
- Muestras de secreción vaginal que presenten estructuras micóticas en la prueba de KOH.

Criterios de Exclusión

- Las mujeres de 15 a 45 años que no cumplieron con los criterios de toma de muestra, (Anexo 4).

5.6 Métodos, Técnicas y Procedimientos

La presente investigación se desarrolló en 3 fases:

Fase pre-analítica

- Autorización para la recolección de muestras en el Centro de Salud N° 1 de Loja por parte de la Directora del distrito 11D01 de Loja, Dra. Carlota Villamarín, (Anexo 1).
- Autorización para el procesamiento de las muestras en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja, (Anexo 2).
- Formato del consentimiento informado, (Anexo 3).
- Condiciones pre-analíticas para la toma de muestra de secreción vaginal, (Anexo 4).
- Registro del paciente, (Anexo 5).
- Protocolo para la toma de muestra de secreción vaginal, (Anexo 6).
- Protocolo para la conservación y transporte de la muestras de secreción vaginal, (Anexo 7).
- Preparación del medio Agar SABOURAUD (Anexo 8)
- Inserto del medio Agar SABOURAUD emitido por el fabricante, (Anexo 9).
- Preparación del medio de CHROMagar-*Candida* (Anexo 10)
- Inserto del medio de CHROMagar-*Candida* emitido por el fabricante, (Anexo 11).

Desarrollo de la fase analítica

- Protocolo para realizar la prueba de KOH, (Anexo 12).
- Cultivo de la muestra en el medio de Agar SABOURAUD, (Anexo 13).
- Protocolo para realizar el control de calidad con cepas conocidas de *Candida*, (Anexo 14).
- Protocolo para el cultivo de colonias aisladas de *Candida* en el medio de CHROMagar-*Candida*, (Anexo 15).

- Registro de resultados, (Anexo 16).

Desarrollo de la fase post analítica

- Informes del resultado obtenido, (Anexo 17).
- Protocolo para eliminación de residuos microbiológicos, (Anexo 18).

5.7 Tabulación, análisis e interpretación de datos

Para la tabulación de los datos se utilizó el programa de Excel 2016 en donde los resultados obtenidos fueron representados mediante tablas y en función a los objetivos planteados.

6. Resultados

Resultados de la identificación de estructuras micóticas mediante la prueba de KOH

Tabla 3

Resultados de la prueba de KOH		
Resultado	Frecuencia	Porcentaje
Levaduras	79	60.8%
Seudohifas	17	13.1%
Levaduras y pseudohifas	34	26.1%
Total	130	100%

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Loja
Autora: Diana Maritza Cotacachi Tuquerres

Interpretación: En la tabla 3 se representan los resultados de 130 muestras de secreción vaginal que fueron positivas para la prueba de KOH, en las cuales se identificaron estructuras micóticas como: levaduras, pseudohifas y en ocasiones una mezcla de las dos estructuras en una misma muestra. Es así que del 100% (n=130) de las muestras procesadas: el 60.8% (n=79) se encuentra representado por levaduras, el 13.1% (n=17) por pseudohifas y el 26.1% (n=34) por estructuras mixtas de levaduras y pseudohifas.

Resultado del crecimiento de *Candida* spp. en Agar Sabouraud

Cultivo en Agar Sabouraud

Interpretación: Luego de realizar la identificación de estructura micóticas en las muestras de secreción vaginal mediante la prueba de KOH, se realizó el cultivo de la muestra de secreción vaginal en Agar Sabouraud, con el propósito de aislar colonias puras de levaduras. Una vez cultivadas se pudo observar que a las 24 horas de incubación, se presentó el crecimiento de colonias lisas, cremosas y de color blanco–amarillenta.

Resultado del CHROMagar-Candida para identificar la especie de Candida

Tabla 4

Resultado del CHROMagar-Candida para identificar la especie de Candida

Especie de <i>Candida</i>	Color de colonias	Frecuencia	Porcentaje
<i>Candida albicans</i>	Verde	38	29.2%
<i>Candida krusei</i>	Rosado púrpura	90	69.2%
<i>Candida glabrata</i>	Púrpura blanco claro	2	1.6%
Total		130	100%

Fuente: Datos obtenidos en el Laboratorio de Microbiología de la Universidad Nacional de Loja

Autora: Diana Maritza Cotacachi Tuquerres

Interpretación: En la tabla 4 se puede observar tres especies de *Candida* encontradas en las muestras de secreción vaginal analizadas, de las cuales: el 29.2 % (n=38) se encuentra representada por *Candida albicans* (colonias de color verde); el 69.2 % (n=90) por *Candida krusei* (Colonia rosado purpura); y el 1.6 % (n=2) por *Candida glabrata* (Colonia púrpura blanco claro).

7. Discusión

Candida es un hongo de tipo levaduriforme que se caracteriza por coexistir como comensal en el cuerpo humano, pero que puede tornarse patógena. Se han descrito más de 200 especies de *Candida*, siendo la principal *C. albicans*; seguidas de *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. guilliermondii*, *C. pseudotropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. tropicalis*, y *C. lusitaniae*; todas estas son de distribución universal (Arenas, 2014).

La presente investigación denominada “Tipificación de *Candida* en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil que acuden al Centro de salud N°1 de la ciudad de Loja”, se realizó en un total de 130 muestras de secreción vaginal que contenían estructuras micóticas recolectadas durante todo el mes de julio; las pruebas que se seleccionaron para la investigación son las más utilizadas y confiables que sirvieron para cumplir con los objetivos planteados en la investigación.

Las muestras de secreción vaginal fueron examinadas directamente después de ser tratadas con hidróxido de potasio (KOH) al 10%, observándose: levaduras (60.8%), pseudohifas (13.1%) y estructuras mixtas de levaduras y pseudohifas (26.1%). Tras realizar el cultivo de las muestras en Agar Sabouraud se observó que el 100% presentaron el crecimiento de colonias lisas, cremosas y de color blanco–amarillenta a las 24 horas de incubación a 37°C características propias de *Candida*. Luego de realizar el cultivo en CHROMagar-*Candida* se logró identificar a partir de los colores de las colonias crecientes, las siguientes especies de *Candida*: con mayor predominancia *Candida krusei* con el 69.2 % (colonias rosado-púrpura), seguido de *Candida albicans* con 29.2 % (colonias verdes) y *Candida glabrata* con el 1.6 % (colonia púrpura con bordes crema).

La presencia de *Candida spp* no tiene relación con el clima, la situación geográfica ni el estado socioeconómico; sin embargo, se han encontrado algunas diferencias regionales, (Arenas, 2014). En un estudio realizado por García y colaboradores en la ciudad de México

en el 2012, luego de realizar el inóculo de 32 muestras de secreción vaginal de mujeres con displasia cervical en el medio CHROMagar-*Candida* identificaron tres especies de *Candida*: *C. albicans* con el 53 %, seguida de *C. krusei* con 41 % y *C. tropicalis* con el 6 %. En otro estudio realizado en México por Solís y colaboradores en el 2014, se aislaron 4 especies de *Candida* en 19 muestras de secreción vaginal con los siguientes porcentajes: 47% *C. albicans*, 26% *C. krusei*, 21% *C. glabrata* y 15% *C. tropicalis*. En la ciudad de Loja existe un estudio de identificación de especies de *Candida* en muestras de secreción vaginal realizado por Rojas (2015) en el centro de Salud N° 3, en donde luego de analizar 28 muestras se aisló dos especie: *Candida albicans* (71%) y *Candida krusei* (29%). Los resultados expuestos por los tres autores coinciden en que la especie más aislada es *Candida albicans* y que en segundo lugar se encuentra *C. krusei*; estos resultados varían con las obtenidas en la presente investigación, y puede deberse a que la cantidad de muestras analizadas por García, Solís y Rojas son pequeñas en comparación con las utilizadas por nosotros que es más grande (130 muestras); ante esto se puede aplicar la regla general de población y muestra que dice “a mayor tamaño de muestra, menor variabilidad del estimado” que quiere decir que mientras más grande y representativa sea la muestra, menor será el error de la muestra y, en consecuencia, las conclusiones serán más confiables. A esto puede sumarse que a nivel del Centro de Salud N°1 de la Ciudad de Loja en donde se realizó nuestro estudio se registra un mayor porcentaje de mujeres que presentan estructuras micóticas en muestras de secreción vaginal a pesar de recibir tratamiento antifúngico, lo cual hace pensar que el incremento de especies de *Candida no albicans*, en especial de *C. krusei* se observa fundamentalmente en los episodios recurrentes. La erradicación de *C. albicans* puede causar una selección de especies, como *C. krusei* resistente a diferentes agentes antimicóticos de uso común (Solís, y otros, 2014). Además, Bedout y Gómez en el 2010 señala que *C. krusei* es considerada una especie emergente debido al uso profiláctico con fluconazol.

Es menester recalcar que las muestras utilizadas en el presente estudio sobrepasó con los niveles que se esperaban obtener, debido a que en el momento del desarrollo de la investigación se presentó un aumento poblacional por la migración de venezolanos y colombianos; es por ello que los resultados obtenidos tendrían validez en este tiempo de estudio ya que podrían presentarse cambios en lo posterior. Cabe recalcar que por lo demás, el presente estudio tiene validez debido a que se realizó todas las medidas de control de la calidad, ya que cada muestra fue analizada meticulosamente observando sus características macroscópicas y microscópicas, además se realizó el control de calidad de los medios de cultivo verificando que éstas no estén contaminadas para evitar falsos positivos y se logró obtener cepas control de las principales especies de *Candida* (*C. albicans*, *C. krusei*, *Candida tropicalis* y *C. glabrata*) que permitiera verificar que el medio de CHROMagar-*Candida* emitiera los colores que indicaba el inserto.

8. Conclusiones

- Se identificó la presencia de estructuras micóticas tras someterla a la prueba de KOH, de las cuales, el 60.8% (n=79) presentaba levaduras, el 13.1% (n=17) pseudohifas y el 26.1% (n=34) estructuras mixtas de levaduras y pseudohifas.
- Se identificó el crecimiento de colonias de levadura del género *Candida* en Agar Sabouraud, mediante las características de las colonias (lisas, cremosas y de color blanco–amarillento).
- Las especies de *Candida* identificadas en CHROMagar-*Candida* en muestras de secreción vaginal fueron: *Candida krusei* con 69.2% (n=90), *Candida albicans* con el 29.2 % (n=38), y *Candida glabrata* con 1.6 % (n=2).

9. Recomendaciones

Luego de terminar con el presente trabajo investigativo es importante realizar algunas recomendaciones:

- Se debe realizar estudios similares a nivel de la ciudad de Loja, ampliando población y lugares de estudio, con el fin de crear datos epidemiológicos de las especies de *Candida* en muestras de secreción vaginal que estén acorde a la realidad de nuestro medio.
- Se debe estandarizar protocolos para la identificación de *Candida*, con la finalidad de obtener información confiable que ayude al médico a suministrar el tratamiento adecuado para eliminar por completo *Candida*, evitando la recurrencia de infecciones vaginales.

10. Bibliografía




- Abad, Y. (2018). *Análisis de secreción vaginal en mujeres en edad fértil mediante las pruebas de PH, fresco KOH y Gram en usuarias del Centro de Salud N° 1 de la ciudad de Loja*. Obtenido de <https://bit.ly/2zRRdsV>
- Aguilar, G., Araujo, P., Godoy, E., Falcón, M., Centurión, M., & Ortiz, R. (2017). *Identificación y características de Candida spp. en secreción vaginal de pacientes embarazadas y no embarazadas que acudieron al Laboratorio Central de Salud Pública, Asunción Paraguay*. Obtenido de Sección de Micología, Departamento de Bacteriología y Micología.: <https://bit.ly/2ANizjB>
- Arenas, R. (2014). En *Micología Médica Ilustrada*, ° Edición (págs. Capítulo 20, pág. 240). Mexico: Editorial McGrawHill Education, ISBN: 9786071511256.
- Arenas, R. (2014). *Micología Médica Ilustrada*. México : McGrawHi.
- Bonifaz, A. (2012). Candidosis. En A. Bonifaz, *Micologia medica basica* (págs. 321 - 341). Mexico: McGrawHill.
- Bonifaz, A. (2012). Levaduras. En A. Bonifaz, *Micologia médica basica* (pág. 79). Mexico: McGrawhillEducacion.
- Britania. (2015). Sabouraud Glucosado Agar.
- Candidiasis vulvovaginal*. (2018). Obtenido de Asociación Española de Ginecología y Obstetricia: <https://bit.ly/2DoQuCH>
- Carretero, M. (2014). Candidiasis vulvovaginal. *Actualidad científica. Avances farmacológicos*.
- Cassone, A. (2014). *Vulvovaginal Candida albicans infections: pathogenesis, immunity and vaccine prospects*. Obtenido de Royal College of Obstetricians and Gynaecologists: 10.1111 / 1471-0528.12994
- Centro de Salud N° 1 de Loja. (2017). Protocolo para exudado vaginal. *Protocolo de toma de muestras biológicas*.
- Centro de Salud N° 1 de Loja. (2017). Transporte y conservacion de muestras de exudado vaginal. *Transporte y conservacion de muestras biológicas*.
- Conda. (2017). Candida Chromogenic Agar.
- Delmonte, M. L., Fernández, P., Robertiz, S., González, E., & Arcaya, N. (2017). *Frecuencia del género Candida en vagina de mujeres en edad*. Obtenido de Serviluz: <https://bit.ly/2SHShY5>
- Dickinson, B. (2014). CHROMagar™ Candida Medium (pág. 3).

- Dschoutezo, A. (2016). *Acupuntura y Candidiasis*. Obtenido de Acupuntormadrid: <https://bit.ly/2PHpfci>
- Gadea, E., & Solá, X. G. (2011). *Eliminación de residuos en el laboratorio: procedimientos generales*. Obtenido de Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo: <https://bit.ly/2Jf69qF>
- García, A., Ruiz, A., Pérez, A., Montero, A., Sánchez, J., & Rivera, J. (2012). *Prevalencia de diversas especies de Candida en mujeres con displasia cervical en un Hospital de la Ciudad de Puebla, México*. Obtenido de Medigraphic: <https://bit.ly/2zyaOhE>
- Gómez, V. (2013). *Gardnerella, Cándida y Trichomona como agentes causantes de infecciones vaginales en mujeres del barrio la Merced alta-Catamayo*. Obtenido de <https://bit.ly/2CE83yu>
- Gori, J., & Lorusso, A. (2008). Aparato genital . En *Ginecología de Gori. 2da edicion* (pág. 1). Argentina: Editorial el Ateneo.
- Haya, H. R. (2010). *Modificación del Manual de Extracción y transporte de muestras*. Obtenido de Laboratorio de Microbiología: <https://bit.ly/2RFXRtz>
- Koneman. (2008). *Diagnostico microbiológico*.
- Lemus, D., Villarroel, O., & Maniscalchi, M. T. (2014). *Candida spp. aisladas en pacientes con vulvovaginitis de comunidades rurales del municipio Caripe, Venezuela*. Obtenido de Revista Multidisciplinaria del Consejo de Investigación de la Universidad de Oriente: <https://bit.ly/2AP7oIb>
- Llovo, J., & Pontón, J. (2014). *Diagnóstico microscópico de las micosis*. Obtenido de <https://bit.ly/2xLZsEx>
- Malajovich, M. (2015). *Introducción a las técnicas Microbiológicas*. Obtenido de <https://bit.ly/2AP1C9E>
- Miranda, J. E. (2016). *Identificación, susceptibilidad y distribución de especies de Cándida obtenidas de muestras clínicas del Instituto Nacional de Investigación en Salud Pública (INSPI), de enero 2007 a abril 2016*. Obtenido de Pontificia Universidad Católica Del Ecuador: <https://bit.ly/2RFZwPP>
- Murray, P., Rosenthal, K., & Pfaller, M. (2014). *Microbiologia Medica* . España: Elsevier .
- Negróni, Guelfand, & Perrone. (2011). *Manual de medios y reactivos del laboratorio de micología*. Obtenido de <https://bit.ly/2xILfKQ>
- Pinheiro, D. P. (Marzo de 2018). *Candidiasis vaginal. Causa, síntomas y tratamiento*. Obtenido de Md. Saúde: <https://bit.ly/2y2y1Ks>

- Quezada, C. (2018). Cepas control de especies de *Candida*. *Laboratorio Clínico “Reina de El Cisne”*.
- Reascos, M. d., & Castillo, D. K. (2016). “*Incidencia de vaginosis y vaginitis, y determinación de los agentes etiológicos más frecuentes en mujeres de edad fértil sintomáticas y asintomáticas que acuden a consulta externa del hospital regional isidro ayora de la ciudad de Loja*”. Obtenido de <https://bit.ly/2ydkYTY>
- Resino, S. (2011). *Gestión de los residuos en el laboratorio de microbiología clínica*. Obtenido de Epidemiología Molecular de Enfermedades Infecciosas: <https://bit.ly/2Q4SQcB>
- Sociedad Española de Medicina Interna. (2008). *Protocolo de tratamiento antimicrobiano domiciliario*. Obtenido de <https://bit.ly/2PFGIra>
- Solís, M., Moreno, M., Dávalos, M., Fernández, R., Díaz, O., & Arenas, R. (2014). *Colonización vaginal por Candida spp. Frecuencia y descripción de las especies aisladas en mujeres asintomáticas*. Obtenido de Servicio de dermatología, Hospital Manuel Gea González: <https://bit.ly/2ztnzsR>
- Strasinger, S., & Schaub di Lorenzo, M. (2016). Análisis de orina y de los líquidos corporales. En M. S. Susan Strasinger. México: Panamericana.
- Tortora, G., & Derrickson, B. (2011). Los aparatos reproductores . En *Principios de la Anatomía y Fisiología 13ra edición* (pág. 1154). Mexico: Panamericana.
- Villarroel, P., & Santacruz, A. (2011). *Identificación de especies de levaduras del género Candida aislados de exudados vaginales de pacientes en el Hospital Materno Germán Urquidí*. Obtenido de Gaceta Médica Boliviana; Scielo: <https://bit.ly/2D3oofm>

11. Anexos

Anexo 1.- Autorización para la recolección de muestras en el Centro de Salud N° 1 de Loja por parte de la Directora del distrito 11D01 de Loja, Dra. Carlota Villamarín.

 Ministerio de Salud Pública		
COORDINACIÓN ZONAL 7 SALUD DISTRITO 11D01 LOJA LABORATORIO CLINICO		
<u>INFORME DE PERTINENCIA PARA LA REALIZACIÓN DE TRABAJOS DE INVESTIGACIÓN</u>		
DATOS DE LA INVESTIGACIÓN:		
INVESTIGADOR PRINCIPAL	SRTA. DIANA MARITZA COTACACHI TUQUERRES	
INSTITUCIÓN EDUCATIVA	UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA	
FACULTAD	FACULTAD DE LA SALUD HUMANA	
CARRERA	LABORATORIO CLINICO	
TITULO DE LA INVESTIGACION	"TIPIFICACIÓN DE CANDIDA EN MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL DE MUJERES EN EDAD FERTIL QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD N. 1 DE LA CIUDAD DE LOJA"	
GESTORA ACADEMICA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLINICO	Dra. SANDRA FREIRE CUESTA. 	
INFORMACIÓN SOBRE LA INVESTIGACIÓN A REALIZARSE EN EL LABORATORIO DEL CENTRO DE SALUD N. 1		
La toma de muestras para la presente investigación se realizara del 2 julio al 1 de agosto de 2018		
Los objetivos que se quieren alcanzar con la presente investigación son:		

.....Continuación



COORDINACIÓN ZONAL 7 SALUD
DISTRITO 11D01 LOJA
LABORATORIO CLINICO



OBJETIVO GENERAL

Realizar la Tipificación de candida en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil que acuden al Centro de Salud Nro. 1 de la ciudad de Loja.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Identificar la especie de candida en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil que acuden al Centro de salud nro. 1 de la ciudad de Loja
- Determinar la edad en la que existe un mayor riesgo de contraer candida en mujeres en edad fértil que acuden al Centro de Salud Nro. 1 de la ciudad de Loja.
- Determinar los factores predisponentes más frecuentes por las que se origina la Candida en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil que acuden al Centro de salud Nro. 1 de la ciudad de Loja.

ANÁLISIS TÉCNICO DISTRITAL EN RELACIÓN A LA INVESTIGACIÓN:

MOTIVOS PARA LA PARTICIPACIÓN EN LA PRESENTE INVESTIGACIÓN E IMPORTANCIA.

Se considera interesante el tema ya que entre los microorganismos más comúnmente relacionados con las infecciones micóticas vaginales en mujeres en edad fértil están las Cándidas que es una de las infecciones más frecuentes en nuestro medio, por lo cual se considera de importancia conocer los factores que conllevan a la manifestación de dicha patología. Su diagnóstico en ocasiones resulta difícil, porque puede tener manifestaciones simples o combinaciones de síntomas de diferentes etiologías, siendo frecuente un comportamiento asintomático. El objetivo de esta investigación es la identificación de Cándidas que produce la infección y se contribuye con el mejoramiento de la paciente al proporcionar el diagnóstico certero para la elección del tratamiento adecuado.

Sería importante contar con datos estadísticos sobre los resultados obtenidos en la presente investigación sugiero salvo el mejor criterio de la máxima autoridad Dra. Carlota Villamarín Directora del Distrito 11D01 Loja- Salud, la pertinencia para que la Sra. DIANA MARITZA COTACACHI TUQUERRES realice la investigación "TIPIFICACIÓN DE CANDIDA EN MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL DE MUJERES EN EDAD FÉRTIL QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD N. 1 DE LA CIUDAD DE LOJA"

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
DISTRITO 11D01 LOJA
LABORATORIO CLINICO
Pág. 2 de 6

A continuación

.....Continuacion



COORDINACIÓN ZONAL 7 SALUD
DISTRITO 11D01 LOJA
LABORATORIO CLINICO



ACTIVIDADES QUE DEBERÁ CUMPLIRSE EN LA PRESENTE INVESTIGACIÓN:

- La Srta. DIANA MARITZA COTACACHI TUQUERRES deberá socializar con las pacientes en edad fértil que acuden al laboratorio del Centro de Salud N. 1 la investigación a realizarse para que sirva, sus beneficios y en el caso de que la paciente quiera formar parte de la investigación deberá hacer firmar el consentimiento informado el mismo será archivado con la solicitud de exámenes para registro por cualquier eventualidad.
- Antes de realizar la toma de muestra la paciente deberá ser ingresada al sistema informático de laboratorio para obtener el unicódigo respectivo, para lo cual deberá acudir con el pedido médico y la cédula de identidad (documento necesario pero no imprescindible), al no acudir con la cédula de identidad solicitar número de cédula para poder buscar los datos en el sistema de aplicaciones del MSP.
- La toma de muestra se la efectuara en el horario establecido por el responsable de laboratorio del Centro de Salud N. 1
- Realizar la debida codificación en cada tubo de muestra con nombres completos, número de cédula y unicódigo.
- La toma de muestras de secreción vaginal a mujeres en edad fértil lo ejecutara el personal de laboratorio, y la investigadora proporcionara el material necesario para que la muestra pueda ser transportada y ella por cuenta propia realice la tipificación de candida a través de la ejecución de KOH y CHROMO AGAR pruebas específicas para candida,

OBLIGACIONES DE LAS PARTES:

INVESTIGADORA:

- Cumplir con el horario de toma de muestras del laboratorio del Centro de Salud N. 1
- Cumplir con los lineamientos de calidad y seguridad del paciente al

Pág. 3 de 6

A continuación

.....Continuación



Ministerio
de Salud Pública

COORDINACIÓN ZONAL 7 SALUD
DISTRITO 11D01 LOJA
LABORATORIO CLINICO



momento de tomar las muestras.

- Aplicar el consentimiento informado.
- **Mantener la confidencialidad de los resultados de cada usuaria como lo indica el código de ética profesional.**
- Permanecer en el laboratorio solo el tiempo que se emplea en toma de muestras, deslindando cualquier responsabilidad de parte de mi persona como responsable Distrital de los laboratorios 11D01, ante la permanencia por más tiempo de la Srta. DIANA MARITZA COTACACHI TUQUERRES
- Se deberá hacer llegar una copia del producto de la investigación al departamento de provisión y calidad de los servicios del Distrito 11D01.
- Socializar con el personal médico y de laboratorio los resultados de la investigación (como evidencia presentar informe, evidencias fotográficas y firmas de asistencia)
- **Por ningún concepto serán revisadas las historias clínicas de las paciente cualquier dato que se requiera se solicitara al momento de la toma de muestras.**
- Mantener la confidencialidad de los resultados de cada usuaria como lo indica el código de ética profesional

INSTITUCIÓN EDUCATIVA:

- Verificar la Socialización de los resultados de la investigación al personal médico y de laboratorio (como evidencia presentar informe (evidencias fotográficas) con firmas de responsabilidad y firmas de asistencia).

LABORATORIO DEL CENTRO DE SALUD N.2

- Tomar la muestra de secreción vaginal y utilizar el material proporcionado por la investigadora DIANA MARITZA COTACACHI TUQUERRES para el adecuado transporte de muestras.
- Supervisar por parte del responsable de laboratorio que la permanencia de la investigadora dentro del laboratorio sea solo el tiempo que se

.....Continuación



Ministerio de
Salud Pública



COORDINACIÓN ZONAL 7 SALUD
DISTRITO 11D01 LOJA
LABORATORIO CLINICO

emplea en toma de la muestra.

- Mantener la confidencialidad de los resultados de cada usuaria como lo indica el código de ética profesional.

DISTRITO 11D01 SALUD - LOJA.


- Elaborar el informe para que la máxima autoridad Dra. Carlota Villamarin Sucunuta Directora del Distrito 11D01 Loja – Salud autorice de considerar pertinente la toma de muestras de secreción vaginal a usuarias en edad fértil que deseen con consentimiento informado ser parte de la investigación. **TIPIFICACIÓN DE CANDIDA EN MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL DE MUJERES EN EDAD FÉRTIL QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD N. 1 DE LA CIUDAD DE LOJA.**

El transporte de las muestras así como la tipificación de candida ((KOH y CHROMO AGAR) serán realizadas por cuenta propia de la investigadora.

- El informe será elaborado por parte de la Dra. Betty Barriga Abarca Analista Responsable Distrital de los Laboratorios 11D01 – Loja, Revisada por la Dra. Tania Jaramillo Jaramillo Especialista Distrital de Provisión y Calidad de los servicios del Distrito 11D01 Loja- Salud.

CONSIDERACIONES Y PERTINENCIA POR PARTE DEL DISTRITO 11D01- LOJA:

CONSIDERANDO LA IMPORTANCIA DEL TEMA Y CON EL COMPROMISO DE CUMPLIR CON LAS OBLIGACIONES ANTES DESCRITAS LA DRA. CARLOTA VILLAMARIN SUCUNUTA CONSIDERA PERTINENTE LA TOMA DE MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL A LAS USUARIAS EN ETAPA FÉRTIL, QUE DESEEN FORMAR PARTE DE LA INVESTIGACIÓN: "TIPIFICACIÓN DE CANDIDA EN MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL DE MUJERES EN EDAD FÉRTIL QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD N. 1 DE LA CIUDAD DE LOJA" del 2 de julio al 1 de agosto de 2018


 COORDINADORA ZONAL 7 SALUD
 DISTRITO 11D01 LOJA
 LABORATORIO CLINICO

.....Continuación



COORDINACIÓN ZONAL 7 SALUD
DISTRITO 11D01 LOJA
LABORATORIO CLINICO



ELABORADO POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
 Dra. Betty Barriga Abarca ANALISTA RESPONSABLE DE LOS LABORATORIOS DEL DISTRITO 11D01-LOJA	 Dra. Tania Jaramillo Jaramillo ESPECIALISTA DISTRITAL DE PROVISION Y CALIDAD DE LOS SERVICIOS DE SALUD	 Dra. Carlota Villamarín Sucunuta DIRECTORA DISTRITAL DEL DISTRITO 11D01 - LOJA - SALUD
Fecha de elaboración:	28 de Junio de 2018	

PARTES INVOLUCRADAS EN LA INVESTIGACIÓN: "TIPIFICACIÓN DE CANDIDA EN MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL DE MUJERES EN EDAD FERTIL QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD N. 1 DE LA CIUDAD DE LOJA"

INVESTIGADORA:	SRTA. DIANA MARITZA COTACACHI TUQUERRES	
GESTORA ACADEMICA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLINICO	Dra. SANDRA FREIRE CUESTA.	
ADMINISTRADOR TECNICO DEL CENTRO DE SALUD N. 1	DR. ERNESTO GRANDA MARIN	
RESPONSABLE DE LABORATORIO DEL CENTRO DE SALUD N. 1	LIC. MGS. GLENDA RODRIGUEZ LEÓN.	

Loja, 25 de Junio de 2018

Pág. 6 de 6

Anexo 2.- Autorización para el procesamiento de las muestras en el Laboratorio de Microbiología de la Facultad de la Salud Humana de la Universidad Nacional de Loja.

Loja, a 09 de julio del 2018

Dra.

Sandra Freire Cuesta.

GESTORA ACADÉMICA DE LA CARRERA DE LABORATORIO CLÍNICO DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA.

De mi consideración:

Me es grato dirigirme a su digna autoridad con la finalidad de informar que se **AUTORIZA** el uso de los equipos del Laboratorio de Microbiología para el procesamiento de muestras a la Srta. Diana Maritza Cotacachi Tuquerres perteneciente a la Carrera de Laboratorio Clínico, la misma que realizará el desarrollo de su trabajo de investigación denominado **"TIPIFICACIÓN DE CÁNDIDA EN MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL DE MUJERES EN EDAD FÉRTIL QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD Nº 1 DE LA CIUDAD DE LOJA"**.

Particular que pongo a su conocimiento para los fines legales pertinentes.



Mg. Sc. Dolores S. Morocho V.

**RESPONSABLE DE LOS LABORATORIOS DE:
MICROBIOLOGÍA, PARASITOLOGÍA Y MICROSCOPIA.**



Anexo 3.- Formato del Consentimiento Informado

Loja, _____ del 2018

Sra. Srta.

Ciudad



Yo portadora de cédula de ciudadanía número en carácter libre, deliberada y teniendo en cuenta que he sido instruida claramente sobre los análisis a realizarme, manifiesto que:

He recibido toda la información necesaria para participar en el tema de tesis denominado **“Tipificación de *Candida* en muestras de secreción vaginal de mujeres en edad fértil que acuden al Centro de salud N° 1 de la ciudad de Loja”** y por lo tanto manifiesto que autorizo la toma de muestra de secreción vaginal, así como también la utilización de la muestra mencionada anteriormente para realizar el análisis correspondiente que permita llevar a cabo la investigación.

Además, creyendo y asumiendo que tanto la toma de la muestra, así como la información personal y los resultados de los análisis serán protegidos y tratados con absoluta confidencialidad, otorgo mi consentimiento para la realización del procedimiento para lo cual adjunto mi firma a continuación.

C.I.

Anexo 4.- Condiciones pre-analíticas para la toma de muestra de secreción vaginal



**CONDICIONES NECESARIA PARA LA
RECOLECCIÓN DE MUESTRA DE SECRECIÓN
VAGINAL**

Para realizarse el examen de secreción vaginal debe presentarse con su aseo diario y debe cumplir con los siguientes requisitos para la toma de muestra:

- ✓ Abstinencia sexual de dos días.
- ✓ No estar menstruando.
- ✓ Sin realizarse aseo vaginal previa.
- ✓ No estar utilizando tratamiento con óvulos o cremas vaginales.

Fuente: Centro de Salud N°1 de la ciudad de Loja.

Anexo 5.- Registro del paciente

Número	Edad	Nº de Cédula
1	25	11xxxxxx33
2	35	09xxxxxx89
3	28	09xxxxxx19
4	32	09xxxxxx08
5	32	19xxxxxx14
6	37	11xxxxxx54
7	34	07xxxxxx44
8	18	11xxxxxx88
9	36	14xxxxxx26
10	29	05xxxxxx41
11	23	10xxxxxx01
12	18	11xxxxxx88
13	35	13xxxxxx79
14	32	43xxxxx7
15	22	09xxxxxx80
16	23	12xxxxxx28
17	18	07xxxxxx31
18	38	16xxxxxx48
19	28	09xxxxxx33
20	26	01xxxxxx28
21	25	09xxxxxx67
22	28	17xxxxxx16
23	28	09xxxxxx96
24	25	17xxxxxx16
25	26	13xxxxxx55
26	27	17xxxxxx19
27	20	12xxxxxx80
28	21	26xxxxx4
29	40	07xxxxxx18
30	21	11xxxxxx53
31	31	11xxxxxx23
32	21	19xxxxxx96
33	33	17xxxxxx24
34	28	08xxxxxx33
35	29	07xxxxxx97
36	39	09xxxxxx58

A continuación ...

... Continuación

Número	Edad	Nº de Cédula
37	31	11xxxxx53
38	30	60xxxx45
39	22	11xxxxx14
40	37	11xxxxx20
41	43	11xxxxx02
42	25	11xxxxx37
43	30	11xxxxx48
44	22	61xxxx78
45	27	11xxxxx95
46	34	11xxxxx67
47	19	11xxxxx64
48	30	11xxxxx28
49	27	11xxxxx68
50	18	10xxxxx58
51	41	11xxxxx73
52	38	12xxxxx42
53	19	01xxxxx84
54	33	09xxxxx40
55	29	09xxxxx69
56	22	11xxxxx68
57	32	09xxxxx92
58	25	09xxxxx02
59	39	11xxxxx45
60	22	07xxxxx45
61	18	07xxxxx51
62	21	11xxxxx54
63	35	07xxxxx81
64	37	08xxxxx99
65	37	11xxxxx58
66	35	40xxxx12
67	19	11xxxxx65
68	22	12xxxxx76
69	24	09xxxxx71
70	20	08xxxxx90
71	23	22xxxxx90
72	25	01xxxxx01
73	31	07xxxxx19

A continuación ...

... Continuación


Número	Edad	Nº de Cédula
74	28	11xxxxx96
75	22	11xxxxxx21
76	34	11xxxxxxx82
77	25	11xxxxxxx77
78	23	12xxxxxxx62
79	42	11xxxxxxx76
80	24	11xxxxxxx64
81	21	11xxxxxxx29
82	45	11xxxxxxx07
83	19	11xxxxxxx06
84	41	11xxxxxxx15
85	33	11xxxxxxx65
86	29	11xxxxxxx60
87	28	19xxxxxxx42
88	27	11xxxxxxx87
89	33	11xxxxxxx46
90	29	11xxxxxxx26
91	26	11xxxxxxx51
92	32	11xxxxxxx95
93	22	19xxxxxxx01
94	38	07xxxxxxx23
95	15	11xxxxxxx90
96	39	11xxxxxxx32
97	25	19xxxxxxx33
98	20	11xxxxxxx74
99	37	19xxxxxxx46
100	20	11xxxxxxx00
101	32	11xxxxxxx00
102	21	11xxxxxxx10
103	23	11xxxxxxx92
104	22	2xxxxx27
105	29	12xxxxxxx80
106	25	08xxxxxxx56
107	22	13xxxxxxx46
108	20	11xxxxxxx57
109	23	11xxxxxxx89
110	28	11xxxxxxx34

A continuación ...

... Continuación

Número	Edad	Nº de Cédula
111	34	17xxxxxx17
112	27	08xxxxxx75
113	24	12xxxxxx98
114	32	11xxxxxx75
115	30	17xxxxxx47
116	29	17xxxxxx11
117	23	11xxxxxx85
118	41	12xxxxxx05
119	24	20xxxx75
120	28	09xxxxxx16
121	27	09xxxxxx25
122	19	29xxxx06
123	27	07xxxxxx22
124	20	11xxxxxx92
125	24	11xxxxxx24
126	25	11xxxxxx19
127	25	11xxxxxx45
128	38	11xxxxxx07
129	39	11xxxxxx86
130	21	11xxxxxx30

Anexo 6.-

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Toma de muestra de secreción vaginal</p>	<p>Código: TMSV Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 1/2</p>
---	---	---

Protocolo para la toma de muestra de secreción vaginal**1) Introducción**


Las infecciones vaginales son motivo frecuente de consulta en la práctica ginecológica diaria. Los síntomas más frecuentes son: flujo vaginal abundante, prurito vulvar y olor; sin embargo ciertas patologías pueden cursar de forma asintomática como en el caso de la candidiasis. Es importante detectar las infecciones vaginales para evitar posibles complicaciones graves. El diagnóstico se realiza a través de exudado vaginal. La muestra de secreción vaginal se utiliza para ayudar a la detección de infecciones en la vagina, complicaciones durante el embarazo o para realizar pruebas forenses.

2) Objetivo

- Realizar una correcta toma de muestra de secreción vaginal

3) Materiales

- Gafas protectoras
- 1 par de guantes
- 1 Mascarilla
- 1 Camilla ginecológica
- 3 Hisopos (medio de transporte Stuart)
- 3 Tubos de ensayo
- 1 Gradilla
- Suero fisiológico

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p align="center">Nombre del protocolo Toma de muestra de secreción vaginal</p>	<p>Código: TMSV Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 2/2</p>
---	--	---

4) Procedimiento

- Aplicar las normas de bioseguridad adecuadas antes de realizar cualquier tipo de procedimiento, como es el lavado de manos antes y después de realizar la técnica, portar el traje protector, mandil, mangas, gorro, mascarilla y guantes.
- Previo a la toma de muestras explicar a la paciente el procedimiento que se le va a realizar.
- Pedir a la paciente que se coloque en posición ginecológica.
- Separar los labios vulvares con la mano no dominante y con la mano dominante introducir en la vagina el hisopo.
- Obtener la muestra de secreción vaginal de la membrana mucosa de la pared vaginal con un hisopo estéril, obteniendo de ésta manera las muestras necesarias para realizar la medición de pH, Fresco, KOH y Gram, para este caso se debe recoger la muestras de secreción vaginal en 3 hisopos estériles.

Observaciones


No recolectar la muestra si la paciente se encuentra en su periodo de menstruación, esté usando cremas, antibióticos u óvulos vaginales, se haya realizado duchas vaginales o haya tenido relaciones sexuales menos de 72 horas antes de la toma de muestra.

5) Bibliografía:

Centro de Salud N° 1 de Loja. (2017). Protocolo para exudado vaginal. *Protocolo de toma de muestras biológicas.*

Elaborado por:	Revisado y aprobado por:
Laboratorio Clínico del Centro de Salud N°1 de Loja	Lcda. Iliana Delgado

Anexo 7.-

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Conservación y transporte de muestras de secreción vaginal</p>	<p>Código: CTMSV Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 1/4</p>
---	---	--

Protocolo para la conservación y transporte de la muestras de secreción vaginal**1) Introducción**


Toda la información diagnóstica que microbiología puede proporcionar, depende de la calidad de la muestra recibida. Por ello, una toma mal realizada, pobremente recogida o mal transportada determinará un posible fallo en la recuperación de los agentes patógenos o de la microbiota normal, que puede inducir a errores diagnósticos, e incluso a un tratamiento inadecuado del enfermo. Se debe indicar la terapéutica seguida: El ideal es que todas las muestras se tomaran antes de empezar un tratamiento antibiótico. En caso contrario habría de indicarse la antibioterapia que se ha administrado y el tiempo transcurrido desde la última toma o inyección.

2) Objetivos

- Realizar una correcta conservación de muestra de secreción vaginal
- Realizar un correcto transporte e muestras de secreción vaginal

3) Materiales

- Marcadores
- Medio de transporte Stuart
- Caja de transporte de muestra cooler
- Gradillas


 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Conservación y transporte de muestras de secreción vaginal</p>	<p>Código: CTMSV Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 2/4</p>
---	---	--

4) Procedimiento


La idoneidad de las muestras enviadas depende del cumplimiento de una serie de medidas o reglas referentes a: procedimiento de obtención, cantidad enviada y transporte rápido y adecuado al laboratorio (Haya, 2010; Lemus, Villarroel, & Maniscalchi, 2014).

Como reglas generales cabe indicar las siguientes:

- 1) Antes de recoger la muestra, considerar el riesgo/beneficio de la recogida de la muestra para el paciente.
- 2) Cada muestra deberá ir acompañada de un volante de petición, que deberá estar correcta, legible y completamente cumplimentado:
 - a. Identificación del paciente
 - Apellido 1º, Apellido 2º , Nombre
 - Nº de historia
 - Fecha de nacimiento
 - Sexo
 - Diagnóstico permanente
 - Teléfono/dirección
 - b. Identificación del episodio
 - Fecha de solicitud
 - Datos de la muestra: fecha y hora de obtención de la muestra, naturaleza de la muestra, localización exacta del producto, procedimiento de la extracción.
 - Destino del informe.
 - Médico que lo solicita.
 - Servicio peticionario (centro, servicio o consulta).
 - Carácter (ordinario o urgente).

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Conservación y transporte de muestras de secreción vaginal</p>	<p>Código: CTMSV Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 3/4</p>
---	---	--

- Datos clínicos: diagnóstico clínico de presunción, estado inmunitario del paciente.
 - Profesional que toma la muestra
- 3) La recogida de la muestra deberá realizarse en condiciones de máxima asepsia, evitando contaminaciones ambientales por el personal.
 - 4) Se debe recoger una cantidad de muestra adecuada, ya que en ocasiones una escasa cantidad de muestra puede ser la causa de falsos negativos.
 - 5) El material destinado a cultivo no debe estar en contacto con sustancias desinfectantes o anestésicas, siempre que sea posible.
 - 6) La muestra se debe recoger, siempre que sea posible, antes de iniciar cualquier terapia antimicrobiana.
 - 7) La muestra debe transportarse en envases adecuados, con cierres a prueba de fugas.
 - 8) La muestra debe etiquetarse con el nombre del paciente, el servicio solicitante y el tipo de muestra.
 - 9) Se recomienda que cada muestra se introduzca en una bolsa de plástico que a su vez se introducirá en otra donde se incluya el volante. Así se evita que los posibles derrames de la muestra invaliden el volante de petición.
 - 10) El envío al laboratorio de microbiología debe ser lo más rápido posible con objeto de asegurar la supervivencia de microorganismos de difícil crecimiento y de evitar el sobrecrecimiento de la flora normal, acortar el tiempo de contacto con

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Conservación y transporte de muestras de secreción vaginal</p>	<p>Código: CTMSV Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 4/4</p>
---	---	--

anestésicos locales o con otras sustancias con acción antimicrobiana utilizadas en la recogida de la muestra.

Transporte de secreción vaginal

Recoger la muestra, bajo visión directa, con una torunda, de la zona con mayor exudado o en su defecto, del fondo del saco vaginal posterior. Repetir la operación con una segunda torunda. Una torunda se destinara al estudio microscópico y la otra al cultivo.

Identificar la muestra con los nombres del paciente.

El envío de las muestras debe ser inmediato siempre que sea posible en cooler. Cuando la muestra no pueda procesarse antes de 15 minutos deberán utilizarse hisopos con medio de transporte Stuart.

Tiempo de envío y conservación de la muestra.


- Muestras sin medio de transporte: enviar antes de 15 min a temperatura ambiente.
- Muestras con medio de transporte: que se mantendrán a temperatura ambiente o preferentemente en estufa a 35-37°C hasta el momento de la siembra, que deberá realizarse antes de 3-6 horas.

5) Bibliografía:

Centro de Salud N° 1 de Loja. (2017). Transporte y conservacion de muestras de exudado vaginal. *Transporte y conservacion de muestras biológicas.*

<p>Elaborado por:</p>	<p>Revisado y aprobado por:</p>
<p>Laboratorio Clínico del Centro de Salud N°1 de Loja</p>	<p>Lcda. Iliana Delgado</p>

Anexo 8-

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del procedimiento Preparación del medio Agar SABOURAUD</p>	<p>Código: PMAS Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 1/2</p>
---	---	---

Preparación del medio Agar SABOURAUD**1) Introducción**

Agar SABOURAUD es un medio utilizado para el aislamiento, identificación y conservación de hongos patógenos y saprófitos, particularmente los asociados con infecciones cutáneas (piel, pelo). También es útil para el cultivo de levaduras. En el medio de cultivo, la peptona, la tripteína y la glucosa son los nutrientes para el desarrollo de microorganismos. El alto contenido de glucosa, la presencia de cloranfenicol y el pH ácido, inhiben el desarrollo bacteriano y favorece el crecimiento de hongos y levaduras. El agar es el agente solidificante. Puede ser suplementado con otros agentes selectivos de crecimiento (Britania, 2015).

2) Objetivo


- Preparar el medio Agar SABOURAUD

3) Materiales y equipos*Materiales*

- Agar SABOURAUD
- Matraz de Erlenmeyer de 1000 ml
- Varilla de vidrio
- Reloj de vidrio
- Agua destilada
- Caja de fosforo

Equipos

- Balanza analítica
- Cocineta
- Autoclave
- Cajas Petri
- Cámara de bioseguridad

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del procedimiento Preparación del medio Agar SABOURAUD</p>	<p>Código: PMAS Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 2/2</p>
---	---	---

4) Procedimiento:

- Preparar todos los materiales necesarios para la preparación del medio.
- Suspender 65.0 gramos en 1000 ml de agua destilada o agua des ionizada. En caso de preparar cantidades menores sacar la cantidad por cálculo.
- Reposar 5 minutos y mezclar hasta uniformar.
- Calentar agitando frecuentemente y hervir por un minuto hasta disolver completamente. Evitar el sobrecalentamiento.
- Esterilizar en autoclave a 15 lbs de presión (121 ° C) por 15 minutos.
- Dejar enfriar a 45-50 ° C.
- Mezclar bien y dispensar en cajas Petri estériles.
- El medio preparado debe almacenarse a 2-8°C.

Nota: mantener en un lugar fresco pues la exposición al calor aumenta la hidrólisis de los componentes.

Almacenamiento:

Medio de cultivo deshidratado a 10-35°.

Medio de cultivo preparado a 2-8°C (Britania, 2015).

5) Bibliografía:

Britania. (2015). Sabouraud Glucosado Agar.

Elaborado por:	Revisado y aprobado por:
Diana Maritza Cotacachi Tuquerres	Lcda. Iliana Delgado

Anexo 9.- Inserto de Agar SABOURAUD



REF B0215005 REF B0215006

Sabouraud Glucosado Agar

IVD

USO

Medio utilizado para el aislamiento, identificación y conservación de hongos patógenos y saprófitos. También es útil para el cultivo de levaduras.

FUNDAMENTO

Medio de cultivo recomendado para el aislamiento y desarrollo de hongos, particularmente los asociados con infecciones cutáneas (piel, pelo).

En el medio de cultivo, la peptona, la tripteína y la glucosa son los nutrientes para el desarrollo de microorganismos. El alto contenido de glucosa, la presencia de cloranfenicol y el pH ácido, inhiben el desarrollo bacteriano y favorecen el crecimiento de hongos y levaduras. El agar es el agente solidificante.

Puede ser suplementado con otros agentes selectivos de crecimiento.

CONTENIDO Y COMPOSICIÓN

Código B0215005: envase x 100 g.

Código B0215006: envase x 500 g.

FÓRMULA (en gramos por litro)

PEPTONA.....	5.0
TRIPTEÍNA.....	5.0
GLUCOSA.....	40.0
CLORANFENICOL.....	0.05
AGAR.....	15.0
pH FINAL: 5.6 ± 0.2	

INSTRUCCIONES

Suspender 65 g del polvo en 1 litro de agua purificada. Reposar 5 minutos y mezclar hasta uniformar. Calentar agitando frecuentemente y hervir 1 minuto hasta disolver completamente.

Distribuir en tubos o en otros recipientes apropiados y esterilizar en autoclave a 118-121 °C durante 15 minutos.

Colocar los tubos en posición inclinada para solidificar el medio de cultivo (pico de flauta). También puede distribuirse en placas de Petri estériles.

Nota: mantener en lugar fresco, pues la exposición al calor aumenta la hidrólisis de los componentes.

CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO

Medio de cultivo deshidratado: color beige claro, homogéneo, libre deslizamiento.

Medio de cultivo preparado: color ámbar claro, ligeramente opalescente sin precipitado.

ALMACENAMIENTO

Medio de cultivo deshidratado a 10-35 °C.

Medio de cultivo preparado a 2-8 °C.

PROCEDIMIENTO**Siembra**

Estriar directamente la superficie del medio de cultivo.

Incubación

En aerobiosis a 20-25 °C.

El tiempo dependerá del hongo y levadura que se quiera recuperar. Como regla general, incubar en las condiciones descritas durante 2 a 7 días. En el caso de investigar dermatofitos, incubar durante 5 a 20 días y examinar el cultivo cada 4 a 6 días.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

Describir las características típicas de las colonias y subcultivar en medios apropiados para identificación.

CONTROL DE CALIDAD

MICROORGANISMOS	CRECIMIENTO
<i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	Satisfactorio
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Satisfactorio
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> ATCC 9533	Satisfactorio
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> ATCC 9763	Satisfactorio
CONTROL DE ESTERILIDAD	RESULTADO
Medio sin inocular	Sin cambios

Continúa ...

... Continuación



Sabouraud Glucosado Agar

LIMITACIONES

- El cloranfenicol, además de inhibir el desarrollo bacteriano, puede inhibir el desarrollo de ciertos hongos patogénicos.
- Evitar el sobrecalentamiento del medio de cultivo por riesgo de oscurecimiento, acidificación y disminución de las propiedades gelificantes del agar.
- Realizar ensayos de identificación adicionales de los microorganismos que hayan desarrollado.

MATERIALES NECESARIOS NO PROVISTOS

Equipos y material de laboratorio, microorganismos para control de calidad, reactivos y medios de cultivo adicionales según requerimiento.

PRECAUCIONES

- Solamente para uso diagnóstico in vitro. Uso profesional exclusivo.
- No utilizar el producto si al recibirlo su envase está abierto o dañado.
- No utilizar el producto si existen signos de contaminación o deterioro, así como tampoco si ha expirado su fecha de vencimiento.
- Utilizar guantes y ropa protectora cuando se manipula el producto.

- Considerar las muestras como potencialmente infecciosas y manipularlas apropiadamente siguiendo las normas de bioseguridad establecidas por el laboratorio.
- Las características del producto pueden alterarse si no se conserva apropiadamente.
- Descartar el producto que no ha sido utilizado y los desechos del mismo según reglamentaciones vigentes.

REFERENCIAS

- MacFaddin. 1985. Media for isolation-cultivation-identification-maintenance of medical bacteria, vol. 1. Williams & Wilkins, Baltimore, Md.
- Murray P.R, Baron, Pfaller, Tenover and Tenover. 1999. Manual of clinical microbiology, 7th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- European Pharmacopoeia 6.0, volume 1. 2007. Microbiological Examination of Non sterile products: Test for Specified Microorganisms.

INDICACIONES AL CONSUMIDOR

Utilizar el producto hasta su fecha de vencimiento.
Conservar el producto según las indicaciones del rótulo.

SÍMBOLOS UTILIZADOS



DIAGNÓSTICO
IN VITRO



CODIGO Nº



ELABORADOR



ESTÉRIL



Nº DE
DETERMINACIONES



LOTE Nº



FECHA DE
VENCIMIENTO




LÍMITE DE
TEMPERATURA



INSTRUCCIONES
DE USO

HOJA 2 DE 2

Anexo 10.-

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del procedimiento Preparación del medio <i>CHROMagar-Candida</i></p>	<p>Código: PMCC Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 1/3</p>
---	---	---

Preparación del medio de CHROMagar-*Candida*

1) Introducción

CHROMagar-*Candida* es una formulación cromogénica alternativa a los medios tradicionales para la detección y aislamiento de *Candida* spp. En este medio cromogénico, las tres especies diferentes de *Candida albicans*, *Candida tropicalis* y *Candida krusei* pueden ser diferenciados por los sustratos cromogénicos presentes en el medio.

CHROMagar-*Candida* permite la Identificación y diferenciación fáciles y rápidas de las 3 especies al producir resultados fáciles de leer en una placa, ya que presenta colonias de diferentes colores. Las colonias de *Candida albicans* son verdes, las de *Candida krusei* son de color rosa púrpura y las de *Candida tropicalis* son azules. En el medio, la glucosa es el carbohidrato fermentable que proporciona carbono y energía. La peptona proporciona nitrógeno, vitaminas, minerales y aminoácidos esenciales para el crecimiento. El cloranfenicol es un antibiótico que ayuda a aislar hongos patógenos de material muy contaminado, ya que inhibe la mayoría de las bacterias contaminantes, además es muy recomendado para su uso con medios debido a su estabilidad térmica y amplio espectro bacteriano. La mezcla cromogénica permite la identificación y diferenciación de las 3 especies al producir resultados fáciles de leer en una placa, ya que presentan colonias de diferentes colores, el Agar bacteriológico es el agente solidificante.


2) Objetivos

- Preparar el medio de CHROMagar-*Candida*

3) Materiales y equipos

Materiales

- Agar CHROMagar-*Candida*
- Matraz de Erlenmeyer de 1000 ml

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del procedimiento Preparación del medio CHROMagar-<i>Candida</i></p>	<p>Código: PMCC Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 2/3</p>
---	---	---

- Varilla de vidrio
- Reloj de vidrio
- Agua destilada
- Caja de fosforo


Equipos

- Balanza analítica
- Cocineta
- Cajas Petri
- Cámara de bioseguridad

4) Procedimiento

- Preparar todos los materiales necesarios para la preparación del medio.
- Suspender 45.9 gramos del medio en un litro de agua destilada. En caso de preparar cantidades menores sacar la cantidad por cálculo.
- Mezclar bien y disolver calentando con agitación frecuente.
- Hacer hervir por un minuto hasta que la disolución se complete. Evitar el sobrecalentamiento.
- No autoclavar
- Dispensar en caja Petri
- El medio preparado debe almacenarse a 8-15°C.
- El color es ámbar claro, ligeramente opalescente.

Nota: El medio deshidratado debe ser homogéneo, de flujo libre y de color beige claro. Si hay algún cambio físico, descarta el medio.

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del procedimiento Preparación del medio CHROMagar-<i>Candida</i></p>	<p>Código: PMCC Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 3/3</p>
---	---	---

Almacenamiento:

- Medio de cultivo deshidratado a 10-35°.
- Medio de cultivo preparado a 2-8°C.

5) Bibliografía:

Conda. (2017). Candida Chromogenic Agar.

<p>Elaborado por:</p>	<p>Revisado y aprobado por:</p>
<p>Diana Maritza Cotacachi Tuquerres</p>	<p>Lcda. Iliana Delgado</p>

Anexo 11.- Inserto del medio de CHROMagar-*Candida* emitido por el fabricante



CANDIDA CHROMOGENIC AGAR

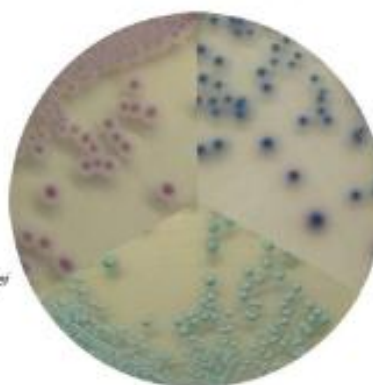
CAT Nº: 1382

Differential and selective chromogenic medium for the isolation and quick identification of *Candida spp* of clinical importance

FORMULA IN g/l

Glucose	20.00	Chromogenic Mixture	0.40
Peptone	10.00	Bacteriological Agar	15.00
Chloramphenicol	0.30		

Final pH 6.1 ± 0.2 at 25°C



Candida krusei
ATCC 34135

Candida tropicalis
ATCC 13639

Candida albicans
ATCC 10231

PREPARATION

Suspend 45.9 grams of the medium in one liter of distilled water. Mix well and dissolve by heating with frequent agitation. Boil for one minute until complete dissolution AVOID OVERHEATING. DO NOT AUTOCLAVE. Dispense into Petri dishes. The prepared medium should be stored at 8-15°C. The color is clear amber, slightly opalescent.

The dehydrated medium should be homogeneous, free-flowing and light beige in color. If there are any physical changes, discard the medium.

USES

CANDIDA CHROMOGENIC AGAR is an alternative chromogenic formulation to the traditional media for the detection and isolation of *Candida spp*.

In this chromogenic medium, the three different species of *Candida albicans*, *Candida tropicalis* and *Candida krusei* can be differentiated due to the chromogenic substrates present within the medium. Candida Chromogenic Agar allows the easy and rapid identification and differentiation of all 3 species by producing easy-to-read results in one plate, since they present different colored colonies.

Colonies of *Candida albicans* are green, those of *Candida krusei* are purple-pink and those of *Candida tropicalis* are blue.

In the medium Glucose is the fermentable carbohydrate providing carbon and energy. Peptone provides nitrogen, vitamins, minerals and amino acids essential for growth. Chloramphenicol is an antibiotic which aids in isolating pathogenic fungi from heavily contaminated material, as it inhibits most contaminating bacteria. It is a recommended antibiotic for use with media due to its heat stability and wide bacterial spectrum. The chromogenic mixture allows the identification and differentiation of all 3 species by producing easy-to-read results in one plate, since they present different colored colonies, Bacteriological agar is the solidifying agent.

The different species of *Candida* produce different kinds of infections. Candidiasis, the most common opportunistic fungal infection is frequently caused by *Candida albicans*. *Candida tropicalis* and *Candida glabrata* infections occur less often. *Candida spp* are present in clinical specimens due to environmental contamination, colonization, or a disease process. *Candida albicans* is the most common and is usually susceptible to the antifungal agents' azole group. However, *Candida glabrata*, *Candida tropicalis* and *Candida krusei* are azole tolerant, thus the rapid identification of the different species of *Candida* is essential for its correct diagnosis and treatment.

1

... Continuación



MICROBIOLOGICAL TEST

The following results were obtained in the performance of the medium from type cultures after incubation at a temperature of 30-37°C and observed after 24, 48 and 72 hours.

Microorganisms	Growth	Colony Color
<i>Candida tropicalis</i> ATCC 1369	Good	Blue
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	Good	Green
<i>Candida krusei</i> ATCC 34135	Good	Purple-Pink
<i>Candida parapsilosis</i> ATCC 22019	Good	Light White – Purple
<i>Candida glabrata</i> ATCC 2001	Good	Light White - Purple

BIBLIOGRAPHY

Sheehan, D.J. et. al.(1999) Current and Emerging Azole Antifungal Agents Clinical Microbiology Reviews, 12 (1): 40-79

Odds, F.C. (1988) *Candida and candidosis*, 2nd ed, Ballière Tindall, London, England.

Ibrahim E.H. et al. (2001) The influence of inadequate antimicrobial treatment of bloodstream infections on patient outcomes in the ICU setting. Chest, 118 (1): 146-55




STORAGE

Once opened keep powdered medium closed to avoid hydration.



Anexo 12.-


 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Método de KOH</p>	<p>Código: MKOH Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 1/3</p>
---	--	---

Protocolo para del método de KOH**1) Introducción**

Es el medio de montaje de las muestras clínicas más universalmente aceptado. Permite clarificar todo tipo de muestras clínicas con abundantes células y restos celulares y observar la morfología y la pigmentación fúngica. El KOH disuelve más rápidamente los elementos celulares que los hongos (protegidos por la pared celular). El efecto clarificador del KOH puede demorar desde 10 min hasta horas, en el caso de las muestras de uñas, y puede reducirse calentando ligeramente la preparación. Se suelen utilizar dos concentraciones, una más fuerte del 20-30% para uñas, y del 10% para el resto de muestras. Si no se utiliza con colorantes, las preparaciones deben estudiarse con un microscopio de contraste de fases o, en su defecto, con uno convencional diafragmando el condensador para aumentar el contraste. Los inconvenientes de las soluciones de KOH son, entre otros, que su reacción con el material clínico puede crear unos artefactos que pueden parecerse a los hongos, con lo que se hace necesaria cierta experiencia en el observador; el carácter corrosivo del KOH en el equipo y la facilidad de aparición, con el tiempo, de cristales que dificultan la observación (Llovo & Pontón, 2014).

2) Objetivo

- Determinar mediante el método de KOH estructuras micóticas presentes en las muestras de secreción vaginal.

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Método de KOH</p>	<p>Código: MKOH Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 2/3</p>
---	---	--

3) Materiales, equipos y reactivos

Materiales:

- Cubreobjetos
- Portaobjetos

Equipos:

- Microscopio

Reactivos:

- KOH al 10%

4) Procedimiento:


- Colocar una gota de KOH 10% en el centro de un portaobjetos limpio.
- Poner una gota de la muestra en el KOH y cubrir con cubreobjetos.
- Dejar actuar por 10 min.
- Observar al microscopio con el objetivo 40x.

Resultado

Positivo: cuando se observa estructuras micóticas

Negativo: cuando no se observan estructuras micóticas

Los dermatofitos se observan como hifas hialinas, tabicadas y ramificadas de 4 a 6 μm de diámetro. Las levaduras se visualizan como elementos esféricos u ovalados (blastosporos/levaduras) que pueden presentar brote y/o pseudohifas. Los hongos miceliales se ven como hifas hialinas o pigmentadas, tabicadas o no, de diámetro irregular según el hongo al que corresponde.

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Método de KOH</p>	<p>Código: MKOH Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 3/3</p>
---	--	---

Nota: Se puede utilizar concentraciones de KOH de 10 al 40%, para ello solo se debe pesar 10, 20 o 30 gr y así obtener una solución de KOH al 10%, 20% o 30%.

Control de Calidad


Colocar una gota del reactivo entre porta y cubre, observar con 40x, chequear ausencia de esporas de hongos y bacterias.

5) Bibliografía:

- Llovo, J., & Pontón, J. (2014). *Diagnóstico microscópico de las micosis*. Obtenido de <https://bit.ly/2xLZsEx>
- Negrón, Guelfand, & Perrone. (2011). *Manual de medios y reactivos del laboratorio de micología*. Obtenido de <https://bit.ly/2xILfKQ>

<p>Elaborado por:</p>	<p>Revisado y aprobado por:</p>
<p>Diana Maritza Cotacachi Tuquerres</p>	<p>Lcda. Iliana Delgado</p>

Anexo 13.-

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del procedimiento Procedimiento para el cultivo de la muestra en el medio Agar SABOURAUD</p>	<p>Código: PCMMAS Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 1/2</p>
---	---	---

Procedimiento para el cultivo de la muestra en el medio Agar SABOURAUD

1) Introducción

Sembrar o inocular es introducir artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano, para su desarrollo y multiplicación. Una vez sembrado, el medio de cultivo se incuba a una temperatura adecuada para el crecimiento.

Las reglas fundamentales para efectuar la siembra exigen:

- Que se efectúen asépticamente
- Que los medios de cultivo y el instrumental a utilizar estén esterilizados
- Que se realicen solo los manipuleos indispensables
- Que se trabaje fuera de toda corriente de aire. De ser posible utilizando un mechero o bien Flujo laminar.


Existen diferentes tipos de siembra de acuerdo al medio utilizado y los requerimientos del microorganismo a estudiar (Malajovich, 2015).

2) Objetivo

- Realizar un sembrado correcto de la muestra en el medio Agar SABOURAUD

3) Materiales

- Medio de cultivo agar SABOURAUD
- Asa de siembra

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del procedimiento Procedimiento para el cultivo de la muestra en el medio Agar SABOURAUD</p>	<p>Código: PCMMAS Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 2/2</p>
---	---	---

- Mechero o flujo laminar

4) Procedimiento

- Las placas de Petri deberán abrirse próximas al mechero Bunsen, para evitar la contaminación con gérmenes del aire.
- Estriar directamente la muestra en la superficie del medio de cultivo.
- Incubar en aerobiosis a 20-25 °C.
- El tiempo de incubación varia de 24 a 72 horas. Observar el crecimiento cada 24 horas.

Interpretación de resultados

Describir las características típicas de las colonias y subcultivar en medios apropiados para identificación.

-Nota: Observar en suero fisiológico una colonia para verificar el crecimiento de levaduras.


5) Bibliografía:

Britania. (2015). Sabouraud Glucosado Agar.

Malajovich, M. (2015). *Introducción a las técnicas Microbiológicas*. Obtenido de <https://bit.ly/2AP1C9E>

<p>Elaborado por:</p>	<p>Revisado y aprobado por:</p>
<p>Diana Maritza Cotacachi Tuquerres</p>	<p>Lcda. Iliana Delgado</p>

Anexo 14.-

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Protocolo para realizar el control de calidad con cepas conocidas de <i>Candida</i></p>	<p>Código: PCCCCC Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 1/3</p>
---	--	---

Protocolo para realizar el control de calidad con cepas conocidas de *Candida*

1) Introducción

Los medios de cultivo constituyen la herramienta fundamental en los laboratorios de Microbiología, por lo que realizar pruebas de control de calidad a los medios preparados es vital, con el fin de comprobar si estos cumplen con sus especificaciones y si la metodología empleada en su preparación es satisfactoria.

2) Objetivo

- Verificar que los resultados obtenidos de los medios Agar SABOUDAUD y CHROMagar-*Candida* sean los descritos por el fabricante.

3) Materiales y equipos*Material*


- Medio Agar SABOUDAUD
- Medio CHROMagar-*Candida*
- Asa de siembra

Equipo

- Incubadora
- Mechero o flujo laminar

4) Procedimiento:

- Obtener la cepa control del laboratorio de Machala de las especies de:
 - *Candida albicans* (14820181)
 - *Candida Krusei* (14820182)

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Protocolo para realizar el control de calidad con cepas conocidas de <i>Candida</i></p>	<p>Código: PCCCCC Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 2/3</p>
---	--	---

- *Candida tropicalis* (14820183)
 - *Candida glabrata* (14820184)
 - *Candida dubliniensis* (14820185)
- Realizar la resiembra en Agar SABOUDAUD
 - Incubar a 37 °C en la incubadora de 24h a 72 h.
 - Verificar el crecimiento de colonias de levaduras
 - Sembrar en el CHROMOAGAR
 - Verificar los colores producidos por cada especie de *Candida*

Resultados:


- Colonia verde: *Candida albicans* (14820181)
- Colonia rosado purpura: *Candida Krusei* (14820182)
- Colonia azul: *Candida tropicalis* (14820183)
- Colonia púrpura blanco claro: *Candida glabrata* (14820184)
- Colonia celeste: *Candida dubliniensis* (14820185) (Quezada, 2018).

5) Bibliografía:

Quezada, C. (2018). Cepas control de especies de *Candida*. *Laboratorio Clínico "Reina de El Cisne"*.

<p>Elaborado por:</p>	<p>Revisado y aprobado por:</p>
<p>Diana Maritza Cotacachi Tuquerres</p>	<p>Lcda. Iliana Delgado</p>

Anexo 15.-

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Cultivo de colonias aisladas de Candida en el medio de CHROMagar-<i>Candida</i></p>	<p>Código: CCACMCC Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 1/3</p>
---	--	--

Protocolo para el cultivo de colonias aisladas de *Candida* en el medio de CHROMagar-*Candida*.

1) Introducción

Sembrar o inocular es introducir artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano, para su desarrollo y multiplicación. Una vez sembrado, el medio de cultivo se incuba a una temperatura adecuada para el crecimiento.

Las reglas fundamentales para efectuar la siembra exigen:

- Que se efectúen asépticamente
- Que los medios de cultivo y el instrumental a utilizar estén esterilizados
- Que se realicen solo los manipuleos indispensables
- Que se trabaje fuera de toda corriente de aire. De ser posible utilizando un mechero o bien Flujo laminar.


Existen diferentes tipos de siembra de acuerdo al medio utilizado y los requerimientos del microorganismo a estudiar (Malajovich, 2015).

2) Objetivo

- Realizar un sembrado correcto de la muestra en el medio CHROMagar-*Candida*

3) Materiales

- Medio de cultivo CHROMagar-*Candida*
- Asa de siembra
- Mechero o flujo laminar

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Cultivo de colonias aisladas de Candida en el medio de CHROMagar-<i>Candida</i></p>	<p>Código: CCACMCC Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 2/3</p>
---	--	--


4) Procedimiento

- Las placas de Petri deberán abrirse próximas al mechero Bunsen, para evitar la contaminación con gérmenes del aire.
- Seleccionar una colonia pura del medio Agar Sabouraud.
- Extender con una asa una colonia pura por estría en la superficie del medio CHROMagar-*Candida*.
- Incubar las placas en atmósfera aerobia a 35 ± 2 °C durante 20 – 48 h en posición invertida.
- Se requiere una incubación de 42 para que se desarrolle por completo el color de las colonias *Candida*.
- **Nota:** Reducir al mínimo la exposición a la luz antes de la incubación y durante ella (Dickinson, 2014).

Interpretación de resultados

Después de la incubación, las placas de las muestras con hongos presentarán crecimiento. Se recomienda efectuar la lectura de las placas sobre un fondo blanco. Si están presentes las especies de *Candida*, las colonias presentarán:

- Colonia verde: *Candida albicans*
- Colonia rosado purpura: *Candida Krusei*
- Colonia azul: *Candida tropicalis*
- Colonia púrpura blanco claro: *Candida glabrata*
- Colonia celeste: *Candida dubliniensis*.

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Cultivo de colonias aisladas de Candida en el medio de CHROMagar-<i>Candida</i></p>	<p>Código: CCACMCC Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 3/3</p>
---	--	--

Nota: Los datos de estudios diversos indican que no es necesario realizar pruebas de identificación adicionales para *Candida albicans*, *C. tropicalis* y *C. krusei* (Conda, 2017).

Observar en suero fisiológico una colonia para verificar el crecimiento de levaduras.

5) Bibliografía:

Conda. (2017). Candida Chromogenic Agar, (págs. 1-2).

Malajovich, M. (2015). *Introducción a las técnicas Microbiológicas*. Obtenido de <https://bit.ly/2AP1C9E>

Elaborado por:	Revisado y aprobado por:
Diana Maritza Cotacachi Tuquerres	Lcda. Iliana Delgado

Anexo 16.- Registro de resultados

FECHA	N° DE MUESTRA	KOH	AGAR SABOURAUD		CHROMagar- <i>Candida</i>
		ESTRUCTURAS MICOTICAS	Crecimiento	No crecimiento	Especie de <i>Candida</i>
09-07-18	1	Levadura:++	X		<i>Candida albicans</i>
09-07-18	2	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
09-07-18	3	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
09-07-18	4	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
10-07-18	5	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
10-07-18	6	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
10-07-18	7	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
11-07-18	8	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
16-07-18	9	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
16-07-18	10	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
16-07-18	11	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
16-07-18	12	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
17-07-18	13	Levadura: ++	X		<i>Candida albicans</i>
17-07-18	14	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
17-07-18	15	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
17-07-18	16	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
17-07-18	17	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
17-07-18	18	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
17-07-18	19	Levadura: + Seudohifa: ++	X		<i>Candida albicans</i>
17-07-18	20	Levadura: + Seudohifa: ++	X		<i>Candida albicans</i>
18-07-18	21	Levadura: ++	X		<i>Candida krusei</i>
18-07-18	22	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>

A continuación ...

... Continuación

FECHA	N° DE MUESTRA	KOH	AGAR SABOURAUD		CHROMagar-Candida
		ESTRUCTURAS MICOTICAS	Crecimiento	No crecimiento	Especie de Candida
18-07-18	23	Levadura: +	X		<i>Candida albicans</i>
18-07-18	24	Seudohifa: ++	X		<i>Candida albicans</i>
18-07-18	25	Levadura: ++	X		<i>Candida albicans</i>
18-07-18	26	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
18-07-18	27	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
18-07-18	28	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
18-07-18	29	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
18-07-18	30	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
19-07-18	31	Levadura: +	X		<i>Candida albicans</i>
19-07-18	32	Seudohifa: +	X		<i>Candida albicans</i>
19-07-18	33	Levadura: ++	X		<i>Candida krusei</i>
19-07-18	34	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
19-07-18	35	Levadura: +	X		<i>Candida albicans</i>
23-07-18	36	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
23-07-18	37	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
23-07-18	38	Levadura: ++	X		<i>Candida krusei</i>
23-07-18	39	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
23-07-18	40	Seudohifa: +	X		<i>Candida albicans</i>
23-07-18	41	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
23-07-18	42	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida albicans</i>
23-07-18	43	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
24-07-18	44	Levadura: ++	X		<i>Candida krusei</i>
24-07-18	45	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
24-07-18	46	Levadura: +	X		<i>Candida albicans</i>
24-07-18	47	Levadura: ++	X		<i>Candida krusei</i>
24-07-18	48	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
24-07-18	49	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida albicans</i>

A continuación ...

... Continuación

FECHA	N° DE MUESTRA	KOH	AGAR SABOURAUD		CHROMagar- <i>Candida</i>
		ESTRUCTURAS MICOTICAS	Crecimiento	No crecimiento	Especie de <i>Candida</i>
24-07-18	50	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
24-07-18	51	Seudohifa: +	X		<i>Candida albicans</i>
24-07-18	52	Levadura: ++ Seudohifa: ++	X		<i>Candida albicans</i>
24-07-18	53	Levadura: ++	X		<i>Candida albicans</i>
24-07-18	54	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
24-07-18	55	Levadura: +	X		<i>Candida albicans</i>
24-07-18	56	Levadura: +++	X		<i>Candida krusei</i>
24-07-18	57	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
24-07-18	58	Levadura: ++	X		<i>Candida krusei</i>
25-07-18	59	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
25-07-18	60	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
25-07-18	61	Levadura: + Seudohifa: ++	X		<i>Candida krusei</i>
25-07-18	62	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
25-07-18	63	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
25-07-18	64	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
25-07-18	65	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
25-07-18	66	Levadura: ++	X		<i>Candida krusei</i>
25-07-18	67	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
25-07-18	68	Levadura: ++	X		<i>Candida albicans</i>
25-07-18	69	Levadura: ++	X		<i>Candida krusei</i>
25-07-18	70	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
25-07-18	71	Levadura: +	X		<i>Candida albicans</i>
25-07-18	72	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida albicans</i>
25-07-18	73	Levadura: +	X		<i>Candida albicans</i>
26-07-18	74	Levadura: ++ Seudohifa: +	X		<i>Candida albicans</i>
26-07-18	75	Levadura: ++ Seudohifa: +	X		<i>Candida albicans</i>

A continuación ...

... Continuación

FECHA	N° DE MUESTRA	KOH	AGAR SABOURAUD		CHROMagar- <i>Candida</i>
		ESTRUCTURAS MICOTICAS	Crecimiento	No crecimiento	Especie de <i>Candida</i>
26-07-18	76	Levadura: ++ Seudohifa: ++	X		<i>Candida albicans</i>
26-07-18	77	Levadura: +	X		<i>Candida albicans</i>
27-07-18	78	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
27-07-18	79	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
27-07-18	80	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
27-07-18	81	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
27-07-18	82	Levadura: +	X		<i>Candida albicans</i>
30-07-18	83	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
30-07-18	84	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
30-07-18	85	Levadura: ++	X		<i>Candida albicans</i>
30-07-18	86	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
30-07-18	87	Levadura: ++	X		<i>Candida krusei</i>
30-07-18	88	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
30-07-18	89	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
31-07-18	90	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
31-07-18	91	Levadura: ++	X		<i>Candida albicans</i>
31-07-18	92	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
31-07-18	93	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
31-07-18	94	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
31-07-18	95	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
31-07-18	96	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
31-07-18	97	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
31-07-18	98	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
01-08-18	99	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
01-08-18	100	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
01-08-18	101	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
01-08-18	102	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida albicans</i>

A continuación ...

... Continuación

FECHA	N° DE MUESTRA	KOH	AGAR SABOURAUD		CHROMagar- <i>Candida</i>
		ESTRUCTURAS MICOTICAS	Crecimiento	No crecimiento	Especie de <i>Candida</i>
01-08-18	103	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
01-08-18	104	Levadura: +	X		<i>Candida albicans</i>
01-08-18	105	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
01-08-18	106	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
01-08-18	107	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
03-08-18	108	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
06-08-18	109	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
06-08-18	110	Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
06-08-18	111	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
07-08-18	112	Levadura: ++	X		<i>Candida krusei</i>
07-08-18	113	Levadura: ++ Seudohifa: ++	X		<i>Candida albicans</i>
07-08-18	114	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
08-08-18	115	Levadura: +	X		<i>Candida albicans</i>
09-08-18	116	Levadura: +++	X		<i>Candida krusei</i>
03-08-18	117	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
06-08-18	118	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
06-08-18	119	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
06-08-18	120	Levadura: +	X		<i>Candida krusei</i>
07-08-18	121	Levadura: ++	X		<i>Candida krusei</i>
07-08-18	122	Levadura: ++ Seudohifa: ++	X		<i>Candida albicans</i>
07-08-18	123	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida krusei</i>
08-08-18	124	Levadura: ++	X		<i>Candida albicans</i>
08-08-18	125	Levadura: +	X		<i>C. glabrata</i>
08-08-18	126	Levadura: +	X		<i>Candida albicans</i>
08-08-18	127	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>C. glabrata</i>
08-08-18	128	Levadura: + Seudohifa: +	X		<i>Candida albicans</i>
09-08-18	129	Levadura: +++	X		<i>Candida krusei</i>
09-08-18	130	Levadura: +	X		<i>Candida albicans</i>

Anexo 17.- Informes del resultado obtenido



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE LOJA
FACULTAD DE LA SALUD HUMANA
LABORATORIO CLÍNICO**

Resultado tipificación de *Candida*


<p>NOMBRE: EDAD: FECHA: CÓDIGO DE MUESTRA:</p>
--

<p>RESULTADO</p> <p>KOH: AGAR SABOUROUD: AGAR CHROMOAGAR:</p>

.....
Diana Maritza Cotacachi Tuquerres

Responsable

Anexo 18.- Protocolo para eliminación de residuos microbiológicos

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Protocolo para eliminación de residuos microbiológicos</p>	<p>Código: PERM Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: ½</p>
---	---	---

Protocolo para eliminación de residuos microbiológicos

1) Introducción

En el laboratorio se manejan gran cantidad de productos y se efectúan diversas operaciones que conllevan la generación de residuos, en la mayoría de los casos peligrosos para la salud y el medio ambiente. Aunque el volumen de residuos que se generan en los laboratorios es generalmente pequeño en relación al proveniente del sector industrial, no por ello debe minusvalorarse el problema.

Unas adecuadas condiciones de trabajo en el laboratorio implican inevitablemente el control, tratamiento y eliminación de los residuos generados en el mismo, por lo que su gestión es un aspecto imprescindible en la organización de todo laboratorio. Otra cuestión a considerar es la de los derrames, que si bien tienen algunos aspectos coincidentes con los métodos de tratamiento para la eliminación de residuos, la actuación frente a ellos exige la consideración de otros factores como la rapidez de acción, aplicación de métodos de descontaminación adecuados, etc. (Gadea y Solá, 2011).

2) Objetivo

- Establecer el procedimiento para la correcta eliminación de residuos biológicos.


3) Materiales y equipos

Materiales

- Papel reciclado
- Cinta maski
- Marcador
- Funda roja

Equipo

- Esterilizador y cronómetro

 <p>Universidad Nacional de Loja Facultad de la Salud Humana</p>	<p>Nombre del protocolo Protocolo para eliminación de residuos microbiológicos</p>	<p>Código: PERM Revisión: 1 Edición: 1 Fecha: 25/06/2018 Página: 2/2</p>
---	---	---

4) Procedimiento

La esterilización en autoclave es la manera más común de tratar este tipo de residuos en el propio laboratorio que los genera. Hay que asegurarse que el ciclo del autoclave permite la esterilización en toda la masa de los residuos. Los programas para materiales limpios no sirven para los desechos, siendo aconsejable prolongar el tiempo y aumentar la presión del proceso de autoclavado (Resino, 2011).

El procedimiento a seguir es:

- Envolver el material en papel reciclado, de tal manera que quede envuelto por completo.
- Sellar con la cinta
- Esterilizar en el Autoclave 121 grados centígrado por 30 minutos a 15 lbs de presión. Pasado ese tiempo dejar enfriar.
- Colocar el material en una funda roja y amarrar con un nudo fuerte,
- Etiquetar la funda con el eslogan “desechos biopeligrosos”, el lugar de donde procede y el peso.

5) Bibliografía:

Gadea, E., & Solá, X. G. (2011). *Eliminación de residuos en el laboratorio: procedimientos generales*. Obtenido de Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el trabajo:
<https://bit.ly/2Jf69qF>

Resino, S. (2011). *Gestión de los residuos en el laboratorio de microbiología clínica*. Obtenido de Epidemiología Molecular de Enfermedades Infecciosas:
<https://bit.ly/2Q4SQcB>

Elaborado por:	Revisado y aprobado por:
Diana Maritza Cotacachi Tuquerres	Lcda. Iliana Delgado

12. Apéndice

Apéndice 1.- Certificado de Traducción del Resumen

English Speak Up Center

Nosotros "*English Speak Up Center*"

CERTIFICAMOS que

La traducción del documento adjunto solicitada por la señorita **DIANA MARITZA COTACACHI TUQUERRES** con cédula de ciudadanía número **1003949169** cuyo tema de investigación se titula: **"TIPIFICACIÓN DE CANDIDA EN MUESTRAS DE SECRECIÓN VAGINAL DE MUJERES EN EDAD FÉRTIL QUE ACUDEN AL CENTRO DE SALUD N° 1 DE LA CIUDAD DE LOJA"**, ha sido realizada por el Centro Particular de Enseñanza de Idiomas "*English Speak Up Center*".

Esta es una traducción textual del documento adjunto, y el traductor es competente para realizar traducciones.

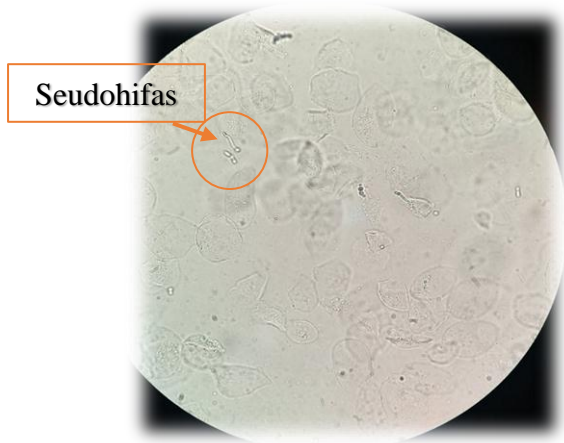
Loja, 11 de Diciembre de 2018

Elizabeth Sánchez de Velasco
Mgs. Elizabeth Sánchez Burneo

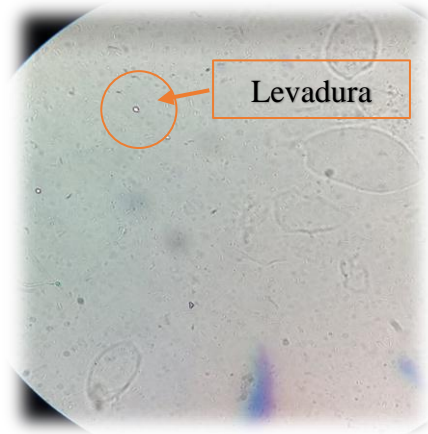
DIRECTORA ACADÉMICA

Apéndice 2.- Evidencia fotográfica

Identificación de estructuras micóticas con la prueba de KOH

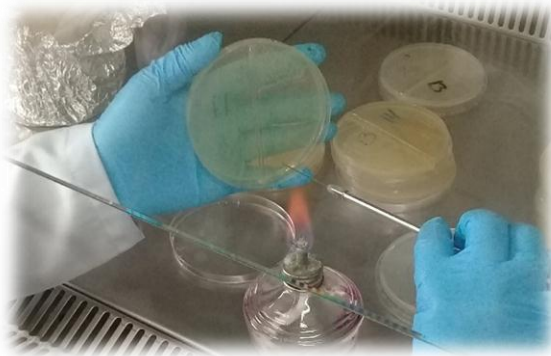


Identificación de seudohifas
en la prueba de KOH

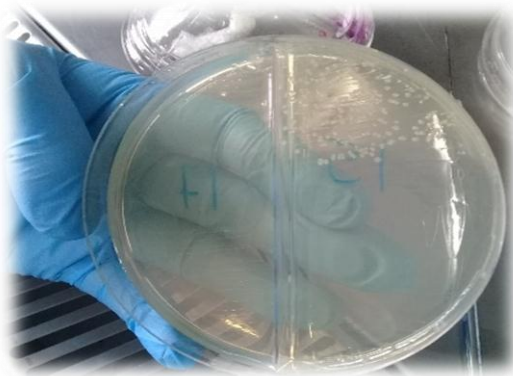


Identificación de levaduras
en la prueba de KOH

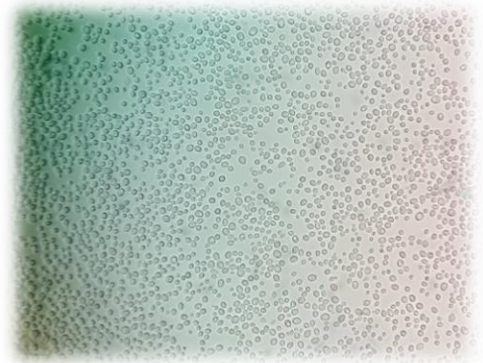
Crecimiento de colonias de levaduras en Agar Sabouraud



Cultivo de la muestra positiva para KOH en el Agar Sabouraud

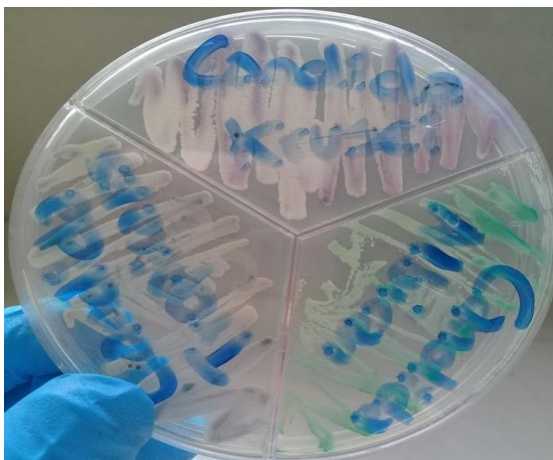


Identificación del crecimiento de colonias en Agar Sabouraud.



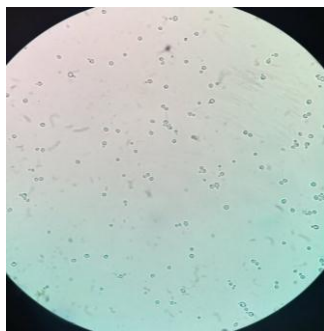
Observación de colonias que crecieron en Agar Sabouraud.

**Cultivo de cepas de especies conocidas de *Candida* en CHROMagar-*Candida*
para el control de calidad del medio.**



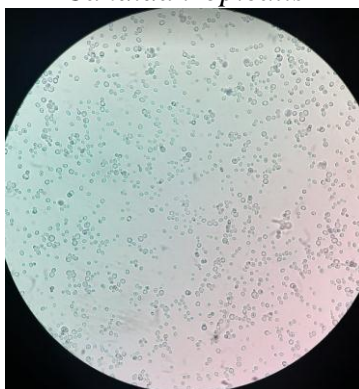
Colonia rosado púrpura: *Candida Krusei*
Colonia verde: *Candida albicans*
Colonia azul: *Candida tropicalis*

Candida Albicans



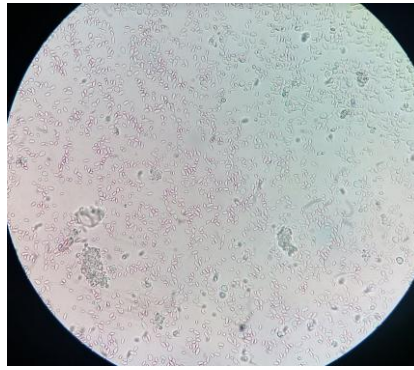
Descripción: Blastoconidias de diferente tamaño, redondeadas, de pared delgada, gemantes, con pseudohifas y/o hifas.

Candida tropicalis



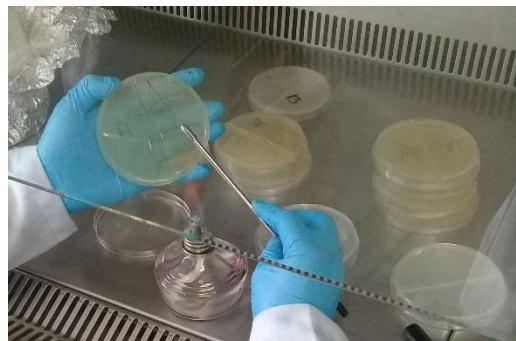
Descripción: Blastoconidias de gran tamaño, solitarias o en acúmulos, en ocasiones gemantes.

Candida krusei



Descripción: Seudohifas y blastoconidia alargados en forma elíptica.

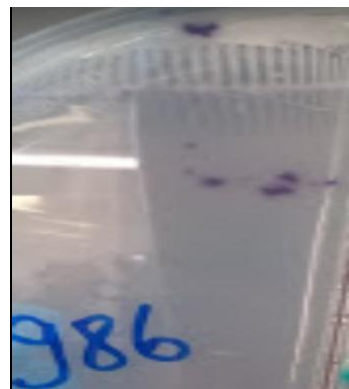
Identificación la especie de *Candida* mediante el cultivo en CHROMagar-*Candida*.



Resiembra de la colonia creciente en Agar Sabouraud en CHROMagar-*Candida*



Candida albicans



Candida krusei



Candida glabrata